

**UNTERSUCHUNGEN ZUM
VITAMIN C-METABOLISMUS
BEI KRALLENAFFEN**

Gunther Geyer

Disbui. München

1987



Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

UNTERSUCHUNGEN ZUM

VITAMIN C-METABOLISMUS

BEI KRALLENAFFEN

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Gunther Geyer

aus

Passau

München, 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. H. Zucker

Korreferent: Prof. Dr. J. Meyer

Tag der Promotion: 24. Juli 1987



drucken + binden
gmbh
Schellingstraße 23
8000 München 40
☎ 089/28 44 45

Meiner Mutter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554818_0064

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG.....	1
2. LITERATURÜBERSICHT.....	5
2.1. Die physiologische Rolle von Vitamin C.....	5
2.2. Resorption.....	6
2.3. Transport und Verteilung.....	6
2.4. Vitamin C-Stoffwechsel.....	8
2.5. Retention und Halbwertszeit.....	11
2.6. Vitamin C und Streß.....	13
2.7. Methoden zur Untersuchung des Vitamin C-Stoffwechsels.....	17
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	18
3.1.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen.....	18
3.1.2. Konstruktion einer Stoffwechselkammer.....	18
3.1.3. Versuchsplanung und -durchführung.....	24
3.1.4. Probengewinnung und -aufbewahrung.....	28
3.1.4.1. Harnproben.....	28
3.1.4.2. Kotproben.....	28
3.1.5. Analytische und radiometrische Methoden.....	29
3.1.5.1. Vitamin C-Bestimmung im Harn.....	29
3.1.5.2. Exhalationsradiometrie.....	30
3.1.5.3. Aufbereitung der ^{14}C -markierten Kotproben im Sample Oxidizer.....	32
3.1.5.4. ^{14}C -Aktivitätsmessung im Flüssigkeitsszintillationszähler.....	33
3.1.5.5. Berechnungen.....	33

	Seite
3.2.	ERGEBNISSE.....35
4.	DISKUSSION.....60
4.1.	$^{14}\text{CO}_2$ Exhalation.....61
4.2.	^{14}C -Exkretion im Urin.....64
4.3.	^{14}C -Exkretion in den Fäzes.....66
4.4.	Bewertung der kinetischen Parameter.....68
5.	ZUSAMMENFASSUNG.....74
	SUMMARY.....75
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....76

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Der Name Ascorbinsäure leitet sich von den antiskorbutischen und sauren Eigenschaften des Vitamins ab. Bereits im antiken Ägypten wurde ein dem Skorbut, der Vitamin C-Mangelkrankheit, sehr ähnliches Krankheitsbild geschildert (HODGES, 1980; MAJOR, 1954). Im Mittelalter und zu Beginn der Neuzeit waren neben Engländern und Portugiesen die Holländer als seefahrende Nation schwer durch Skorbut betroffen. Gegen Ende des 16. Jahrhunderts erkannten sie, daß zur erfolgreichen Bekämpfung von Skorbut frisches Gemüse nötig sei. Sie legten sich schließlich reguläre Gemüsegärten auf ihren Schiffen an und errichteten längs ihrer Seewege Stationen, in denen sie stets frisches Gemüse für ihre Seeleute übernehmen konnten. Im Jahre 1753 verfaßte der schottische Schiffsarzt James Lind eine systematische Beschreibung von Skorbut und empfahl zu seiner Verhütung diätetische Maßnahmen (LIND, 1753). Heute werden auch in den Industrieländern noch Fälle von Skorbut festgestellt. Betroffen sind vor allem Menschen mit sehr einseitigen Ernährungsgewohnheiten, z.B. Alkoholiker (HOFFMANN-LA ROCHE, 1985).

Die chemische Struktur der Ascorbinsäure wurde in den Jahren 1928-1932 geklärt (V.SZENT-GYÖRGYI, 1933; KING and WAUGH, 1932). Die chemische Synthese wurde 1933 nahezu gleichzeitig von Reichstein in Zürich und der englischen Schule von Haworth und Hirst mitgeteilt (REICHSTEIN et al., 1933; HAWORTH et al., 1933).

Während die meisten Tierarten zur Ascorbinsäuresynthese fähig sind, können der Mensch und mit ihm fast alle Primaten, das Meerschweinchen und einige andere Spezies Vitamin C nicht selbst aufbauen, da ihnen die Enzyme zur Umwandlung von D-Glucuronsäure in 2-Keto-L-gulonolacton,

woraus spontan L-Ascorbinsäure entsteht, fehlen (CHATTERJE et al., 1961). Auch die zur Primatenunterordnung der Neuweltaffen gehörenden Krallenaffen (Callithricidae) sind auf die exogene Zufuhr von Vitamin C angewiesen. Die in Mittel- und Südamerika beheimateten Affen (Simiae) werden ihrer breiten Nasenscheidewand wegen auch Breitnasenaffen oder Plathyrrhini genannt.

Die Krallenaffen sind tagaktive Baumbewohner. An den Großzehen tragen sie den für Primaten typischen Plattnagel, die übrigen Nägel sind zu Krallen ausgebildet. Nach ihrer Dentition unterscheidet man bei den Callithricidae zwei Gruppen. Bei den Tamarinen, zu denen u.a. die Spezies *Saguinus fuscicollis* (Braunrückentamarin) gehört, überragen im Unterkiefer die Eck- die Schneidezähne. Marmosets, zu denen u.a. die Spezies *Callithrix jacchus* (Weißbüscheläffchen) zählt, haben im Unterkiefer gleich lange Eck- und Schneidezähne. Deswegen können sie kleine Löcher in Bäume bis zur Kambiumschicht nagen und daraus den Baumsaft lecken.

Als Omnivoren ernähren sich Krallenaffen von Früchten, Nüssen, Blättern, Insekten, kleinen Wirbeltieren und Vogeleiern. Ihren Flüssigkeitsbedarf decken sie durch Auflecken von Regentropfen, Pflanzensäften und durch den Wassergehalt ihrer Nahrung (NAPIER und NAPIER, 1967). Außerdem stellt der erwähnte Baumsaft, teilweise in getrockneter Form aufgenommen, einen bedeutenden Anteil an der Ernährung der Krallenaffen (COIMBRA-FILHO and MITTERMEIER, 1978).

Medizinische und pharmazeutische Fragen werden in steigendem Maße mit Hilfe von Primaten gelöst. Die sehr kleinen Krallenaffen (Körpergewicht: 300 - 600 g) eignen sich gut als Versuchstiere, da sie relativ leicht zu

halten und zu züchten sind. Gemessen an anderen Primaten haben sie einen niedrigen Intelligenzgrad. Sie sind für eine Vielzahl humanpathogener Viren empfänglich und werden u.a. in der Virusforschung, in der teratologischen, toxiologischen und endokrinologischen Forschung eingesetzt. Seitdem die Herkunftsländer Brasilien, Bolivien und Peru den Export der dort teilweise vom Aussterben bedrohten Krallenaffen verboten haben, muß der Bedarf allein durch Zuchtkolonien gedeckt werden. In der Gefangenschaft sind diätetische Mängel die häufigste Ursache nicht-infektiöser Erkrankungen von Primaten (WALLACH and BOEVER, 1983). Für eine erfolgreiche Zucht, aber auch für das Erzielen aussagekräftiger Ergebnisse im Experiment, ist u.a. eine genaue Kenntnis des Ernährungstatus der Tiere unabdinglich.

Die große Bedeutung von Vitamin C in der Ernährung von Krallenaffen wird dadurch unterstrichen, daß Krankheit und Streß den Vitamin C-Stoffwechsel beeinflussen und vermutlich den Vitamin C-Bedarf erhöhen. So wurden bei Krallenaffen, die aus verschiedenen Ursachen erkrankt waren, Serumascorbatspiegel festgestellt, die um ein Mehrfaches niedriger lagen als bei gesunden Tieren der gleichen Spezies. Außerdem fiel in den Untersuchungen von KERN (1986) ein großer Speziesunterschied auf: der Serumascorbatspiegel von *Saguinus fuscicollis* lag, bei gleicher Haltung und Fütterung, um ca. 75% niedriger als bei *Callithrix jacchus*.

Es war das Ziel unserer Untersuchungen, Aufschlüsse über Aufnahme, Verstoffwechselung und Ausscheidung von Vitamin C bei Krallenaffen zu erhalten. Es sollte untersucht werden, worauf der Unterschied im Serum-Vitamin C-Gehalt der beiden erwähnten Spezies beruht. Es sollte auch der Frage nachgegangen werden, ob und in welcher Weise Streß die Verstoffwechselung von Vitamin C beeinflussen kann. Zur

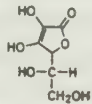
Durchführung dieser Untersuchungen sollte eine gasdichte Stoffwechselkammer konstruiert werden, die die getrennte Sammlung von Urin und Fäzes sowie die Messung der Expirationsluft ermöglichen sollte.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Die physiologische Rolle von Vitamin C

Vitamin C gehört, chemisch gesehen, zu den Zuckern. Es stellt die Endiolverbindung des Laktons der Ketogulonsäure dar. Abbildung 1 zeigt die chemische Struktur der Ascorbinsäure (AA).

Abbildung 1



Schon seit langem ist bekannt, daß die Verhinderung von Skorbut nicht die alleinige Funktion von Vitamin C ist. Es ist an einer Vielzahl biochemischer Reaktionen beteiligt, die meist nicht eindeutig den Erscheinungen der Mangelkrankheit Skorbut zuzuordnen sind (CHOJKIER et al., 1984). In Nebennieren- und Lebermikrosomen tritt Vitamin C durch das Radikal Semidehydroascorbinsäure, ein Zwischenprodukt aus der Oxidation von Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure, als Elektronenüberträger auf (WEIS, 1975). Vitamin C beschleunigt eine Reihe von Hydroxylierungsreaktionen: als Wasserstoffdonator die Synthese von Noradrenalin aus Dopamin, als Kofaktor der Prolin- und Lysinhydroxylase die Kollagensynthese, die Synthese von Steroiden in der Nebenniere und als Kofaktor die Carnithinsynthese. Auf der reduzierenden Wirkung von Vitamin C beruht seine Rolle beim Abbau von Tyrosin und bei der Umwandlung von Folsäure zu Tetrahydrofolsäure. Weiter steigert Vitamin C die Resorption von Eisen aus der Nahrung, es fördert die Wundheilung und verbessert die Immunantwort auf zellulärer und humoraler Basis (BEISEL, 1982).

Es stimuliert die Migration neutrophiler Granulozyten, steigert die Phagozytosefähigkeit der Leukozyten, erhöht Serum-IgG- und -IgM-Spiegel und die Produktion von Interferon. Da Vitamin C den Plasmaspiegel von Cholesterin senkt, wirkt es der Entstehung von Atherosklerose entgegen (GINTER and BOBECK, 1981). Vitamin C hat auch einen Einfluß auf die hormonelle Regie des Körpers. DEGWITZ (1985) fand bei Meerschweinchen mit sehr niedrigen Serumspiegeln von Vitamin C erhöhte Cortisolspiegel im Blut. Meerschweinchen mit sehr hohen Serum-Vitamin-C-Spiegeln hingegen wiesen erhöhte Blutspiegel an Schilddrüsenhormonen auf. Die Bedeutung von Vitamin C in der Krebstherapie ist umstritten.

2.2. Resorption

Die Resorption von Vitamin C erfolgt bei Mensch und Meerschweinchen, die beide auf exogene Vitamin C-Zufuhr angewiesen sind, durch einen aktiven, Na^+ -abhängigen, sättigbaren, elektroneutralen, Carrier-vermittelten Transportmechanismus im Duodenum und im proximalen Jejunum (KALLNER et al., 1980). Bis zu einer Aufnahme von 180 mg/Tag wird beim Menschen die Dosis durchschnittlich zu 84% resorbiert. Bei steigender Zufuhr nimmt die Resorptionsrate ab und beträgt bei einer Dosis von 1,5g 50% und bei 12g nur noch 16% der Dosis (KÜBLER und GEHLER, 1970). Bei Ratten, die zur endogenen Vitamin C-Biosynthese fähig sind, wird Vitamin C mittels passiver Diffusion im Ileum resorbiert (SPENCER et al., 1963).

2.3. Transport und Verteilung

Die Organe und Gewebe enthalten unterschiedlich hohe Ascorbinsäurekonzentrationen. Beim Menschen, und ähnlich auch bei der Ratte und beim Meerschweinchen, finden sich

die höchsten Konzentrationen in Nebennieren und Hypophyse. Die Konzentrationen in Leber, Milz und Gehirn sind zwar vergleichsweise geringer, machen aber der größeren Organmasse wegen die Hauptmenge der Reserven aus (GINTER, 1979). Dieselben Faktoren, die die Biosynthese von Ascorbinsäure in der Rattenleber beeinflussen, wirken auch auf seine Verteilung ein. Die Ascorbinsäurespiegel in den Organen steigen nach Behandlung mit Adrenocorticotropem Hormon (ACTH), nach Injektion von Na-Barbital, nach Vitamin C-Aufnahme und nach Zusatz von Chrom oder Wolfram zum Futter. Die Gewebespiegel sinken bei geringer Vitamin C-Aufnahme, Fasten, Unterernährung, Adrenal- und Hypophysektomie, Kastration und Behandlung mit Thyroxin, sowie bei Müdigkeit und streßbedingenden Veränderungen. Die beiden letztgenannten Faktoren führen vor allem zu einer Depletion der Nebennieren (HORNIG et al., 1983; KITABCHI and WEST, 1975).

Vitamin C wird im Blutplasma nur in sehr geringem Maße an Proteine gebunden. In den Geweben, die wie Gehirn, Hypophyse, Nebennieren, Hoden und Augenlinsen eine sehr hohe Retentionskapazität besitzen, wird es vermutlich an subzelluläre Strukturen gebunden. Bisher wurden keine spezifisch Vitamin C-bindenden Proteine entdeckt (HORNIG and HARTMANN, 1982). SPECTOR und LORENZO (1973) fanden, daß der Transport von Vitamin C ins ZNS bei Kaninchen durch einen aktiven und sättigbaren Carrier vermittelt wird. Auch die Aufnahme von Vitamin C in das Auge erfolgt mittels eines erleichterten, sättigbaren Transports (LINNER and NORDSTRÖM, 1969). Deswegen treten bei erhöhter Zufuhr maximale Vitamin C-Spiegel zuerst in diesen Geweben ein, während die Leber als letztes Organ, also erst bei Zufuhr sehr hoher Mengen von Vitamin C, seine maximalen Spiegel erreicht (DEGKWITZ, 1985).

2.4. Vitamin C-Stoffwechsel

Der Abbau von Ascorbinsäure verläuft speziesspezifisch und beginnt mit der Oxidation zu Dehydroascorbinsäure (DHAA), die in einer Reihe enzymatischer und nicht enzymatischer Prozesse erfolgt. DHAA hat volle Vitaminwirksamkeit, da sie im Organismus, besonders durch enzymatische Reaktion mit Glutathion, wieder zu AA reduziert werden kann (BÄSSLER und LANG, 1981).

Durch enzymatische Aufspaltung des Laktonrings entsteht aus DHAA 2,3-Diketogulonsäure. Daraus kann entweder unter Decarboxylierung L-Xylonsäure und D-Lyxonsäure entstehen oder durch oxidative Spaltung Oxalsäure und Threonsäure (HORNIG et al., 1983; LEVINE, 1986).

Ascorbinsäure und deren Metaboliten werden in Atemluft, Urin und Kot ausgeschieden. Der Hauptausscheidungsweg bei Meerschweinchen und Ratte ist die Exhalation als CO_2 . Nach oraler Verabreichung von $1\text{-}^{14}\text{C}$ markierter Ascorbinsäure atmen Meerschweinchen binnen 10 Tagen 66% der Dosis als $^{14}\text{CO}_2$ aus, während sie 10% im Urin und ca. 3% im Kot ausscheiden (HORNIG and HARTMANN, 1982). Das Maximum in der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation tritt dabei schon eine halbe Stunde nach Applikation der Dosis auf. Da maximale Ascorbinsäurespiegel in Plasma und rasch durchbluteten Organen wie Lunge, Leber und Nieren erst nach 1,5 Stunden gemessen wurden, vermuten die Autoren dieser Studien eine präsystemische Verstoffwechselung im Darm. Sie halten einen Abbau im sauren Darmmilieu für unwahrscheinlich, so daß der Abbau der Kohlenstoffkette der Ascorbinsäure am wahrscheinlichsten während der Passage durch die Darmwand stattfindet. Demnach wären bestimmte Strukturen in der Wand für den raschen oxidativen Abbau zu Kohlendioxid verantwortlich.

Diese Annahme steht im Widerspruch zu in vitro-Untersuchungen von SCHMIDT et al. (1983), bei denen nach Zugabe von Ascorbinsäure weder in Homogenaten von Magen, Darm, Leber, noch von Dünndarmflora, CO_2 in nennenswerten Beträgen freigesetzt wurde. Aus der verstärkten CO_2 -Entwicklung aus Leberhomogenaten nach Zugabe von DHAA schlossen SCHMIDT et al., daß die Leber der Entstehungsort der CO_2 -Produktion ist, und die Oxidation zu CO_2 erst nach Abbau zu DHAA und 2,3-Diketogulonsäure erfolgt. Das dazu nötige Enzym DHAA-Delaktonase wurde in der Leber von Meer-schweinchen und Ratte nachgewiesen.

Dieses Enzym, das die irreversible Spaltung des Lakton-rings katalysiert, fehlt Primaten (KLAIN et al., 1981). Deshalb muß bei Affe und Mensch, bei denen nur geringe Oxidationsraten zu CO_2 beobachtet wurden, die CO_2 -Pro-duktion in einem prinzipiell anderen Stoffwechselprozeß erfolgen. Der Mensch atmet nur bei sehr hoher Vitamin C-Auf-nahme 1-10% einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbin-säure in Form von CO_2 aus (KALLNER et al., 1985).

Makaken, die an alle Versuchsbedingungen und an die Fesse-lung an einen Primatenstuhl gewöhnt waren, atmeten 2 - 5 % einer Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure als $^{14}\text{CO}_2$ aus. Durch ein 7 Tage dauerndes Training sollten alle streßbedingten Einflüsse auf den Vitamin C-Metabolismus ausgeschaltet bzw. so niedrig wie möglich gehalten werden. Die Oxi-da-tionsrate zu $^{14}\text{CO}_2$ war unter diesen Bedingungen weder durch die aufgenommene Vitamin C-Menge noch durch den Vitamin C-Status der Affen beeinflussbar. Dagegen exha-lierten diese Affen, wenn sie nicht an die Versuchs- und Umweltbedingungen gewöhnt waren und dadurch massivem Streß ausgesetzt waren, hohe Anteile einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -AA, nämlich 20-90%, in Form von $^{14}\text{CO}_2$ (TILLOTSON, 1978).

Die Mechanismen, die zu dieser Änderung im Vitamin C-Katabolismus führten, sind nicht geklärt. OMAÏE et al. (1982) vermuten einen Zusammenhang zwischen dem Vitamin C-Katabolismus und dem Nebennieren-Hypophysen-Regelkreis. Die Autoren nehmen an, daß Streß einen spontanen, raschen hydrolytischen Abbau von DHAA zu 2,3-Diketogulonsäure auslöst, von der rasch CO_2 abgespalten wird. Dagegen spricht aber das Fehlen des dazu nötigen Enzyms Delaktonase bei Primaten.

Nach intravenöser Applikation von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure atmeten Menschen und Makaken weniger als 1% der Dosis als $^{14}\text{CO}_2$ aus. Dies führte zu der Überlegung, daß CO_2 oder Ascorbinsäuremetaboliten, aus denen CO_2 freigesetzt wird, während der Darmpassage aus Ascorbinsäure entweder durch chemischen Abbau oder durch mikrobielle Zersetzung entstehen (BAKER et al., 1975).

Ascorbinsäure ist für die Nieren von Meerschweinchen, Menschen und Krallenaffen ein Schwellenstoff, der nach glomerulärer Filtration bis zu einem bestimmten Blutspiegel vollständig rückresorbiert wird. Die tubuläre Reabsorption ist aktiv und sättigbar. Die Konzentrationsschwelle liegt beim Menschen zwischen 0,7 mg und 0,8 mg Vitamin C pro 100 ml Plasma (KALLNER et al., 1982). KERN (1986) ermittelte die Nierenschwelle für Vitamin C bei Krallenaffen im Bereich zwischen 0,76 mg und 1,06 mg Vitamin C pro 100 ml Serum. Ausscheidungsprodukte im Harn sind beim Menschen, der etwa ein Drittel einer oral gegebenen Dosis über die Niere ausscheidet, Ascorbinsäure (20%), Dehydroascorbinsäure (2%), Oxalsäure (41%), Diketogulonsäure (20%) und AA-2-sulfat in Spuren (HELLMANN and BURNS, 1958). Etwa die Hälfte der täglichen Oxalatausscheidung von 40-50 mg stammt von Ascorbinsäure. Bei der Aufnahme von Megadosen Vitamin C (10 g/Tag und mehr) steigt die Oxalsäureexkretion nur bis zu einem maximalen Wert von 90 mg/Tag (SCHMIDT et. al., 1981).

Bei Makaken wurden bei bedarfsdeckender Vitamin C-Zufuhr durchschnittlich 40% von oral gegebener 1-¹⁴C-Ascorbinsäure im Urin ausgeschieden (TILLOTSON, 1978). Die ¹⁴C-Aktivität im Urin konnte dabei chromatographisch in 4 Fraktionen aufgetrennt werden (TILLOTSON and McGOWN, 1981). Das Verhältnis dieser Fraktionen hing von der Vitamin C-Zufuhr ab. Bei niedriger Vitamin C-Versorgung betrug der Anteil nicht verstoffwechselter Ascorbinsäure 10-20%, bei hoher Versorgung dagegen etwa 75%. In Oxalat fanden sich bei Niedrigversorgung 25-48% der ¹⁴C-Aktivität wieder, bei hoher Vitamin C-Aufnahme dagegen nur noch 7%. Die beiden anderen Metaboliten wurden nicht identifiziert.

Das Verhältnis der Hauptmetaboliten von 1-¹⁴C-Ascorbinsäure im Urin von Ratten und Meerschweinchen unterscheidet sich von dem bei Primaten. Die Radioaktivität in Ascorbinsäure, Dehydroascorbinsäure und 2,3-Diketogulonsäure entspricht jeweils 2-3%, in Oxalat 7% der aufgenommenen Menge. Daneben wurde ¹⁴C-Aktivität auch in 2-O-Methylascorbat, Asorbat-2-sulfat und Saccharoascorbat, sowie in einer Reihe nicht identifizierter Fraktionen entdeckt (TOLBERT, 1979).

Es ist wenig bekannt, aus welchen Stoffwechselvorgängen diese Metaboliten stammen und welche physiologische Bedeutung sie besitzen. Aufschlüsse darüber würde sicher das Verstehen der Ascorbinsäurewirkungen erleichtern und weitere Klärung in der Frage des Vitamin C-Bedarfs erbringen.

2.5. Retention und Halbwertszeit

In kinetischen Studien werden zur Beschreibung der Stoffwechselvorgänge mathematische Modelle erstellt. Derartige Ergebnisse liegen von Vitamin C unter anderem beim Men-

schen (KALLNER et al., 1982), beim Makaken (TILLOTSON and O'CONNOR, 1981) und beim Meerschweinchen (HORNIG and HARTMANN, 1982) vor.

KALLNER et al. (1982) postulierten für den Vitamin C-Metabolismus des Menschen ein Modell, das die Verteilung in 3 Kompartimenten vorsieht. Von einem zentralen Kompartiment aus wird Ascorbinsäure aufgenommen und dann entweder unverändert wieder ausgeschieden oder mit zwei weiteren Kompartimenten ausgetauscht. In dem zweiten vermuteten die Autoren den Ort des Vitamin C-Metabolismus, von dem aus die Metaboliten eliminiert werden. Das dritte Kompartiment fungiert als Langzeitspeicher. Je nach Ascorbinsäureaufnahme beträgt der gesamte Ascorbinsäurepool 10 - 20 mg/kg KG, liegt also bei erwachsenen Menschen zwischen 1,5 und 2 g. Bei Vitamin C-Depletion werden 3% des Pools pro Tag abgebaut. Der Katabolismus und damit auch die biologische Halbwertszeit hängen von der Vitamin C-Aufnahme ab. Mit steigender Vitamin C-Zufuhr verkürzt sich die Halbwertszeit von 30 Tagen (bei niedriger Zufuhr) auf 10 Tage (bei hoher Vitamin C-Aufnahme).

Auch beim Meerschweinchen läßt sich die Eliminierung und der Plasmaktivitätsverlauf nach oraler Gabe von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure am besten durch ein Modell mit 3 Kompartimenten beschreiben (HORNIG and HARTMANN, 1982). Die biologische Halbwertszeit beträgt 61 Stunden bei einem Ascorbinsäurepool von 54 mg/kg KG. Der semilogarithmisch aufgetragene Aktivitätsverlauf im Plasma zeigt, daß, nach einer anfänglichen, raschen Verteilung, die in mindestens zwei Phasen (1,1 Stunden und ca. 22 Stunden nach Appl.) verläuft, eine lineare Phase folgt, die eine Gleichverteilung mit den Geweben anzeigt. DEGWITZ (1985) stellte fest, daß Meerschweinchen, die Futter mit extrem hohem Gehalt an Vitamin C erhielten,

vermehrt Vitamin C katabolisierten. Sie schieden, im Vergleich zu Tieren mit mittleren AA-Gehalten im Futter, weniger AA im Urin aus. Demnach ist die Geschwindigkeit des Abbaus mit der Höhe der aufgenommenen Menge positiv korreliert.

Auch bei Makaken läßt die Stoffwechselkinetik das Prinzip des beschleunigten Katabolismus bei erhöhter Vitamin C-Zufuhr erkennen (TILLOTSON and O'CONNOR, 1981). Bei einer Aufnahme von 1 mg/kg KG betrug der Ascorbinsäurepool 24 mg/kg KG, die tägliche Umsatzrate 2,5 mg und die biologische Halbwertszeit 15 Tage auf der Basis eines Modells mit 2 Kompartimenten, die unterschiedlich lange Halbwertszeiten aufwiesen. Sehr lange Halbwertszeiten (71 Tage und 150 Tage) ergaben sich bei einer täglichen Vitamin C-Zufuhr von 0,5 mg/kg KG, sehr viel kürzere dagegen bei Affen, die erhöhtem Streß ausgesetzt waren. Die Autoren schlossen aus ihrer Untersuchung, daß der an alle Versuchsbedingungen gewöhnte Makake ein ausgezeichnetes Studienmodell zum Vitamin C-Stoffwechsel des Menschen darstellt.

2.6. Vitamin C und Streß

Streß ist die Alarmreaktion des Körpers auf verschiedenste unspezifische Reize. Ziel der damit verbundenen komplexen Vorgänge ist die Anpassung an unerwartete Veränderungen und die Wiederherstellung der Homöostase (SELYE, 1973). Diese Anpassung bewältigen Affen, die schon auf geringe Veränderungen der Umwelt mit Streß reagieren, im allgemeinen binnen 7 Tagen (TILLOTSON, 1978). Streß bewirkt einen beschleunigten Abbau von Vitamin C und damit einen erhöhten Vitamin C-Bedarf. So führte Streß, der durch Fesselung an einen Primatenstuhl ausgelöst wurde, bei Makaken (*Macaca fascicularis*) nach oraler Gabe von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ zu

einer vermehrten Ausätmung von $^{14}\text{CO}_2$ und zu einer erhöhten Exkretion von ^{14}C -Aktivität im Urin (TILLOTSON and O'Connor, 1981).

DE KLERK et al. (1973a) beobachteten bei frisch aus der Wildnis eingefangenen Grünen Meerkatzen (*Cercopithecus aethiops*) in den ersten Tagen einen drastischen Abfall der Serum Vitamin C-Konzentrationen. Innerhalb einer Eingewöhnungszeit von 61 Tagen stiegen die Serumascorbatspiegel um mehr als das Doppelte wieder an, sanken aber nach induziertem Streß wieder stark ab. Die Autoren schlossen daraus, daß die Haltung von Affen in Gefangenschaft und unter experimentellen Bedingungen deren Vitamin C-Bedarf erhöht.

Auch bei Pavianen (*Papio ursus*) stellten DE KLERK et al. (1973b) ein Absinken der Serumascorbatspiegel in den ersten Gefangenschaftstagen fest. Obschon die Autoren mit unterschiedlicher Vitamin C-Supplementierung in 3 Versuchsgruppen (2 mg, 5 mg und 10 mg/kg KG und Tag) diesen Konzentrationsabfall zu verhindern suchten, nahm die Serum-Vitamin C-Konzentration in allen 3 Gruppen ab. Der Abfall des Serumascorbatspiegels fiel in der Gruppe mit der niedrigsten Versorgung am stärksten aus. In dieser Gruppe stieg gleichzeitig der Serumcholesterinspiegel an. In den beiden höher versorgten Gruppen fiel Serum-Cholesterin in den ersten Tagen in Gefangenschaft ab und stieg dann erst an. DE KLERK und Mitarbeiter (1973b) deuteten dies so, daß Vitamin C-Gaben der streßbedingten Erhöhung des Serumcholesterinspiegels entgegenwirken.

MCINTOSH et al. (1981) beobachteten bei Marmosets Hypercholesterinämie bei Vitamin C-Mangel. Eine plausible Lösung der oft widersprüchlichen Aussagen über die Wirkung von Ascorbinsäure auf den Cholesterinspiegel bieten GINTER et al. (1967) an. Danach stimuliert Vitamin C den Cholesterinkatabolismus nur dann, wenn hohe Serum-Cholesterin-

konzentrationen vorliegen. Bei Menschen mit normalen Cholesterinspiegeln wirkte Vitamin C nicht hypocholesterinämisch.

Wenn ein Tier Streß ausgesetzt wird, kommt es neben anderen Alarmreaktionen zu einem raschen Anstieg von ACTH, das die Nebennierenrinde zur Synthese und zur Sekretion von Glucocorticoiden stimuliert (THAXTON and PARDUE, 1983). Rhesusaffen (*Macaca mulatta*), denen ohne vorangehende Gewöhnung an die Prozedur Blut entnommen wurde, wiesen nahezu doppelt so hohe Plasma-Cortisolkonzentrationen auf wie daran gewöhnte Affen (ELVIDGE et al., 1976). Ratten reagierten auf unspezifische Reize wie Umweltveränderungen, Lärm, Blutentnahme und Haltung in Gruppen, mit stark erhöhten Plasma-Cortisolspiegeln (BARRETT and STOCKHAM, 1963).

Streß verursacht des weiteren auch eine Abnahme der Konzentrationen von Ascorbinsäure und Cholesterin in den Nebennieren, während der Cholesterinspiegel im Blut ansteigt. Dieses Absinken der Nebennieren-AA-Konzentration führte zu der Annahme, daß die Steroidsynthese Vitamin C-abhängig sei (KITABCHI and WEST, 1975). Ascorbinsäure übt einen inhibitorischen Effekt auf die Enzyme 11- β -Hydroxylase und C-21-Hydroxylase (KITABCHI, 1977; GREENFIELD et al., 1980) aus, die Syntheseschritte von Glucocorticoiden katalysieren. Die Enzymhemmung ist vermutlich die Ursache für die Verringerung der Glucocorticoidsynthese durch Ascorbinsäure (HORNIG et al., 1983). Umgekehrt werden bei Vitamin C-Mangel erhöhte Cortisonspiegel im Blut beobachtet (ODUMOSU, 1981; DEGWITZ, 1985). DEGWITZ (1985) vermutete, daß bei Vitamin C-Mangel der Regelkreis des Cortisols verstellt ist, in dem zu hohe Cortisol-Blutspiegel den Hypothalamus und den Hypophysenvorderlappen hemmen.

In Notfall- und Streßsituationen werden durch eine Akti-

vierung des adrenergen Systems Katecholamine aus dem Nebennierenmark ausgeschüttet. Die Abhängigkeit der Enzyme Tyrosinhydroxylase und Dopaminhydroxylase aus der Biosynthesekette von Adrenalin und Noradrenalin von AA ist ein weiterer Beleg für die Beteiligung von AA an der Streßreaktion (NAKASHIMA et al., 1972; FRIEDMAN and KAUFMAN, 1965).

Neben Streß kann der AA-Bedarf auch durch Rauchen (KALLNER et al., 1981), Alkoholgenuß (DE FAZIO et al., 1981), orale Kontrazeptiva (WEININGER and KING, 1982), Krankheit (MURPHY et al., 1974), Gravidität und andere physischen und psychischen Belastungen gesteigert werden.

2.7. Methoden zur Untersuchung des Vitamin C-Metabolismus

Die Durchführung von Stoffwechselstudien bei Krallenaffen stellt besondere Anforderungen an die experimentelle Methodik. Bilanzuntersuchungen, die auf einem Vergleich der zugeführten mit der eliminierten Stoffmenge beruhen, lassen lediglich beschränkte Aussagen über die Retention und Elimination des untersuchten Stoffes zu. Bei Studien zum Vitamin C-Stoffwechsel mit Radioisotopen wurde entweder die Isotopenexkretionsmethode oder die Isotopendilutionsmethode angewandt. Die Isotopenexkretionsmethode wird sehr oft bei Untersuchungen zum Vitamin C-Stoffwechsel verwendet und sieht vor, daß das Versuchstier nach Verabreichen radioaktiv markierter AA sofort in eine Stoffwechselkammer mit kontrollierter Luftdurchströmung gesetzt wird, und die ausgeschiedene Radioaktivität in Ausatemungsluft, Urin und Fäzes gemessen wird. Dabei wurden allerdings zumeist wesentlich längere Halbwertszeiten für Vitamin C ermittelt als mit der Isotopendilutionsmethode, bei der die Eliminierung der spezifischen Aktivität aus dem Blut erfaßt wird. Dabei wird der Aktivitäts- und Konzentrationsverlauf in Blutproben festgestellt, die in kurzen Zeitabständen nach Applikation der radioaktiven Dosis entnommen werden (HOLLOWAY, 1981). Bei beiden Methoden werden Versuchstiere vermutlich im gleichen Ausmaß gestreßt. Zumindest wurde das anhand des Plasmacortisolspiegel bei Meerschweinchen festgestellt (KIPP and RIVERS, 1984).

Die Isotopendilutionsmethode läßt aber keine Aussage über Größe, Ablauf und Verteilung der Exkretion auf die verschiedenen Ausscheidungswege zu. Sie erfordert nach Applikation des markierten Stoffes mehrere Blutentnahmen in kurzen Zeitabständen, was bei so kleinen Tieren wie den Krallenaffen problematisch ist.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Versuchstiere und Haltungsbedingungen

Die Versuche wurden an je einem adulten, männlichen Tier der Spezies *Callithrix jacchus* bzw. *Saguinus fuscicollis* aus der Zuchtkolonie des Max von Pettenkofer-Institutes, München, durchgeführt. Beide Tiere sind in Gefangenschaft geboren. Sie waren dem Anschein nach gesund und hatten ihr Gewicht ("Dino", *Callithrix jacchus*, zu Beginn der Versuche 4 Jahre alt, 480 g KG und "Rasputin", *Saguinus fuscicollis*, zu Beginn der Versuche 4 1/2 Jahre alt, 360 g KG) über einen längeren Zeitraum konstant gehalten.

Die Tiere wurden in Stoffwechselkäfigen für Marmosets (Fa. Tecniplast, Gazzada, Italien) gehalten. Die Käfige sind 37 cm breit, 39 cm tief und 51 cm hoch. Sie sind mit einer Sitzstange, einem Schlupfkasten mit Maschendrahtboden, einer Tränkeflasche und einem Futterbehälter ausgestattet. Kot, Urin und Futterreste fallen durch den grobmaschigen Drahtgitterboden und werden durch eine Auffangwanne aus Polyester in ein Trennsystem geleitet. Kot und fallengelassene Futterpellets werden zusammen in einer Glasschale aufgefangen, während der Urin in eine 100 ml-Plastikflasche gelangt. Eine detaillierte Beschreibung der Stoffwechselkäfige findet sich bei SAPPL (1984).

3.1.2. Konstruktion einer Stoffwechselkammer

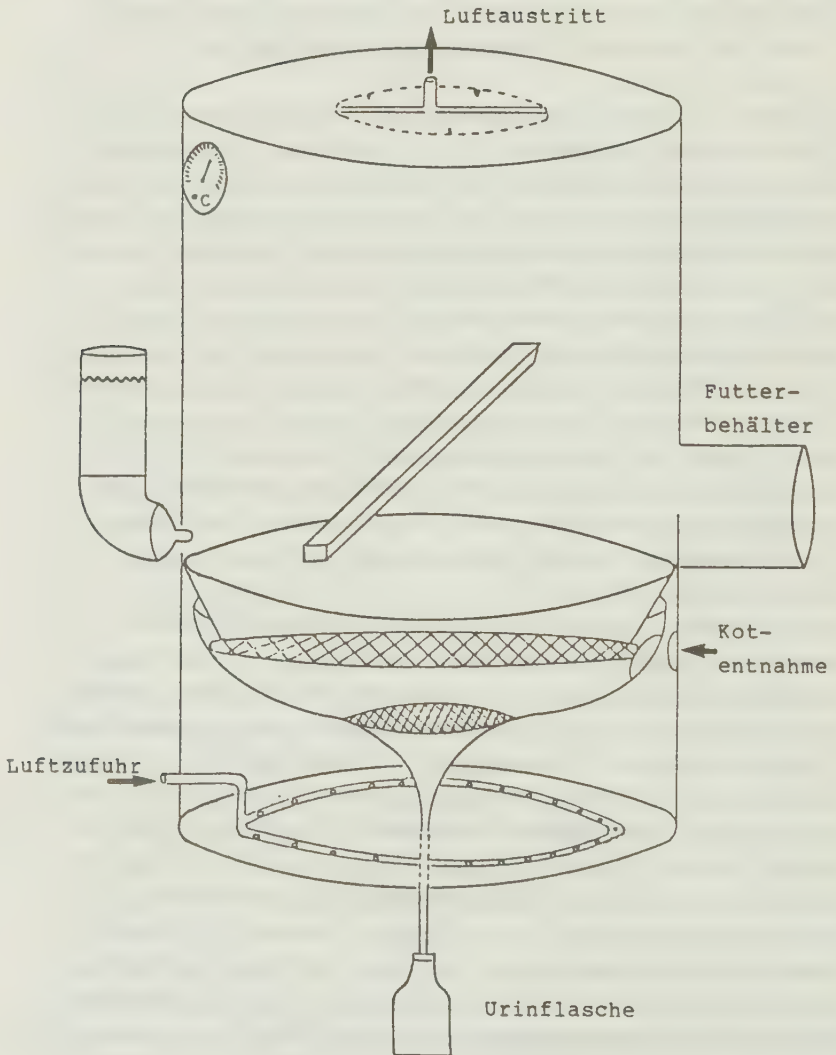
Um neben der getrennten Sammlung von Urin und Kot auch die Atemluft messen zu können, mußte eine gasdichte Stoffwechselkammer konstruiert werden. Die Kammer sollte so viel Raum bieten, daß man einen Affen einige Tage darin

belassen kann. Gleichzeitig sollte sie so klein wie möglich sein, um eine möglichst kurze Einstellzeit zwischen dem Luftdurchsatz der Kammer und der momentanen Exspiration des Affen zu erreichen. Außerdem sollte das Gefäß leicht zu reinigen und zu dekontaminieren sein.

Die nach eigenen Plänen konstruierte Kammer besteht aus einer 40 cm hohen zylindrischen Röhre mit einem Durchmesser von 30 cm. Nach unten hin ist sie durch eine Plexiglasscheibe verschlossen. Der oben aufliegende, gasdicht abschließende Deckel ist ebenfalls aus Plexiglas. Der Aufenthaltsbereich des Affen umfaßt bei einer Höhe von 30 cm ca. 21 l. Im Innern befinden sich eine herausnehmbare Sitzstange aus Plexiglas und ein Thermometer zur Temperaturkontrolle. An der Vorderseite, von dem Tier leicht erreichbar, ist ein durch einen Gummistopfen von außen verschließbarer Zylinder angebracht, in den ca. 30 g pelletiertes Futter passen und der während des Versuches auch nachgefüllt werden konnte. An der Rückseite ist außen eine 250 ml fassende Tränkeflasche befestigt, deren Nippel ins Kammerinnere ragt.

Der Boden des Aufenthaltsbereichs besteht aus grobmaschigem Draht. Ein zur Wand hin mittels Silikon abdichteter Einsatz über dem Drahtboden verhindert den Verlust von Urin, der durch Ablaufen an den Seitenwänden auftreten würde. Kot, Futterreste und Urin gelangen in einen mit Lack beschichteten Kunststofftrichter. Ein darin befindliches, feinmaschiges Gitter hält Fäzes und Futterreste zurück. Von dort können diese durch eine an der Vorderseite befindliche, mit einem Gummistopfen verschließbare Öffnung mit Hilfe einer langen Pinzette entnommen werden. Der Harn wird durch einen am Trichter angeschlossenen Schlauch in eine 100 ml fassende Polyäthylenflasche geleitet, die sich außerhalb der gasdichten Stoffwechselkammer befindet.

Abbildung 2 Stoffwechselkammer



Luft wird durch einen unten am Behälter eingesetzten Stutzen eingesaugt und über einen Kupferrohrring mit regelmäßig angebrachten, kleinen Löchern gleichmäßig verteilt; über einen Spalt zwischen dem seitlichen Einsatz und dem Auffangtrichter gelangt sie in den Aufenthaltsbereich des Affen. Bevor die Luft durch eine Öffnung im Deckel abgesaugt wird, trifft sie auf eine Prallplatte, die Toträume und axiale Strömungen der Luft vermeiden hilft. Die Durchströmungsrate betrug 54 l/h. Die Einstellzeit der Kammer, d.h. die Zeit, bis der CO_2 -Gehalt in der Kammer bei einer Abweichung von 1% einen stationären Endzustand erreicht hat, wurde nach der Gleichung $T_e = 4,606 \times V/Q$ nach STRUSS (1958) errechnet; dabei gibt V das Kammervolumen und Q das Hundertfache der Kohlendioxidausatmung des Affen in der Stunde wieder. Die Einstellzeit betrug unter den genannten Bedingungen ca. 1 Stunde.

Die beiden Affen waren in einem vollklimatisierten, fensterlosen Raum untergebracht. Die Raumtemperatur betrug $23 \pm 1^\circ\text{C}$, die relative Luftfeuchtigkeit 55-60%. Die künstliche Beleuchtung erfolgte im 12 Stundenrhythmus mit einer Beleuchtungsstärke von 500 Lux.

Die Tiere erhielten als Basisnahrung eine Koloniediät (Rezeptur in Anlehnung an FLURER et al., 1983), die überwiegend aus naturbelassenen Nahrungsmitteln besteht und 0,4% (4000 ppm) Vitamin C enthält (s. Tab. 1,2,3,). Die Futtermischungen wurden im Hause selbst hergestellt und zu 5 mm Pellets gepreßt.

Tabelle 1

Zusammensetzung der Koloniediät

Komponenten	Anteil in %
Maisschrot	26,1
Speisehaferflocken	21,0
Weizenkleie	9,0
Saccharose	13,0
Glucose	2,9
Molkenprotein (Globulal 70 N)	4,0
Sojaproteinkonzentrat (Danpro A)	8,0
Casein (Säurecasein Meggle)	3,0
Fettkonzentrat (40% in MM-Pulver)	6,0
Sojaöl	3,0
Vitaminvormischung (Vit.C-frei)	0,3
Vitamin C	0,4
Spurenelementvormischung	0,1
$\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,9
CaCO_3	0,9
NaCl	0,7
Cholinchlorid	0,2
D,L-Methionin	0,1
Kalziumpropionat (Luprosil)	0,4
Summe	100,0

Der Maisschrotanteil der Versuchsdiät mit 250 ppm (0,025%)
Vitamin C betrug 26,475 %.

Tabelle 2

Zusammensetzung der Vitamin C-freien Vitaminvormischung (Basis: Sojafeinmehl). Anteil der Komponenten in 3 Gramm Vormischung (= pro Kilogramm der fertigen Diät).

Retinol	10.000 I.E.
Cholecalciferol	2640 I.E.
-DL-Tocopherolacetat	100 mg
Menadion	2 mg
Thiamin	5 mg
Riboflavin	10 mg
Pyridoxin	10 mg
Niacin	40 mg
Folsäure	4 mg
Ca-D-Pantothenat	20 mg
Cobalamin	50 mg
Biotin	1 mg

Tabelle 3

Zusammensetzung der Spurenelementvormischung (Basis: Magnesiumoxid). Anteil der Komponenten in 1 Gramm Vormischung (= pro Kilogramm der fertigen Diät)

Fe (aus Eisen-(III)-oxid)	100 mg
Mn (aus Mangan-(IV)-oxid)	50 mg
Zn (aus Zinkoxid)	100 mg
Cu (aus Kupferoxid)	10 mg
Se (aus Natriumselenit x 5 H ₂ O)	0,1 mg
J (aus Kaliumjodid)	1 mg
F (aus Natriumfluorid)	2 mg
Mo (aus Natriummolybdat x 2 H ₂ O)	0,5 mg
Ni (aus Nickelsulfat x 6 H ₂ O)	0,1 mg
Cr (aus Chrom-(III)-chlorid x 6 H ₂ O)	0,5 mg

3.1.3. Versuchsplanung und -durchführung

Mit je einem Tier der Spezies *Callithrix jacchus* und *Saguinus fuscicollis* wurden Studien zum Vitamin C-Metabolismus anhand der Isotopenexkretionsmethode durchgeführt. Den Tieren wurde oral 58 kBq/100 g KG l-¹⁴C markierte Ascorbinsäure (AA) verabreicht. Unmittelbar nach Applikation der radioaktiven Dosis wurden die Tiere in die Stoffwechselkammer mit kontrollierter Luftdurchströmung gesetzt. Ausatemungsluft, Urin und Kot wurden in bestimmten Abständen gesammelt und die darin enthaltene ¹⁴C-Aktivität quantitativ bestimmt. Die Affen blieben längstens 48 Stunden in der Kammer. In der übrigen Versuchszeit wurden sie in den Stoffwechselkäfigen gehalten, in denen Urin und Kot gesammelt wurde. Zur Kontrolle des Vitamin C-Status der Tiere wurde die AA-Konzentration im Urin bestimmt. Die Untersuchungen wurden in einem Stall der Abteilung für Nuklearbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in München-Neuherberg durchgeführt.

Ab 3 Wochen vor Versuchsbeginn wurde den Tieren die jeweilige Versuchsdiät, die entweder 250 ppm oder 4000 ppm Vitamin C enthielt, vorgesetzt. Zu diesem Zeitpunkt wurden auch die täglichen Obstgaben abgesetzt. Nach Beendigung der Versuche erhielten die Affen mindestens 3 Wochen lang die Koloniediät mit einem Vitamin C-Gehalt von 4000 ppm zum "Auswaschen" der radioaktiven Dosis.

Vor Beginn der Versuchsreihe wurde die radioaktiv markierte L-(l-¹⁴C)-Ascorbinsäure (Amersham, Braunschweig), die eine spezifische Aktivität von 4,4 MBq/mg aufwies, in kleinere Portionen unterteilt. Dazu wurde ein Teil der Ascorbinsäure in Aqua dest. gelöst und durch Abfüllen bestimmter Volumina mit der gewünschten Aktivität in 1 ml Gaschromatographiefläschchen unterteilt. Nach Lyophilisierung und Verschluss mit Gummistopfen wurden die Portionen bei -20°C tiefgefroren.

Die radiochemische Reinheit des Materials wurde mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie ermittelt, sie betrug 88,9%.

Alle Versuche wurden morgens um 9⁰⁰ Uhr begonnen. Unmittelbar vor Applikation wurde die gewünschte Aktivitätsmenge in 0,5 ml 10% Saccharoselösung aufgelöst und in eine 5 ml-Einwegspritze aufgezogen. Diese Lösung wurde den Affen oral verabreicht, indem sie es tropfenweise von der Spritze ableckten. Um die Verluste möglichst gering zu halten, wurden die Fläschchen nochmals mit je 0,5 ml Saccharoselösung nachgespült und diese den Tieren ebenfalls oral verabreicht.

Die Abfolge und die jeweiligen Bedingungen der durchgeführten Versuche sind in Tabelle 4 angegeben. In den ersten 5 Versuchen erhielten die Affen eine Diät, die 250 ppm Vitamin C enthielt. Der geringe Vitamin C-Gehalt gewährleistete, daß die Vitamin C-Pools der Affen nicht übersättigt waren. Die Testdosis 1-¹⁴C-AA war mengenmäßig zu gering, als daß sie allein schon zu einer Gewebesättigung hätte führen können.

In dieser Untersuchungsreihe sollte auch der Einfluß von Streß auf die Exkretion von 1-¹⁴C-Ascorbinsäure untersucht werden. Daher waren beide Tiere zuvor auch nicht an den Versuchsraum, die enge Stoffwechselkammer, an die versuchstechnisch bedingte häufige Anwesenheit von Personen im Raum, die oftmalige Probennahme und an die Geräuschkulisse, die von der Anlage zur Messung der Exhalation ausging, gewöhnt worden.

In Versuch II sollte die physische und psychische Belastung des Callithrix jacchus während der ersten 12 Stunden des Versuchs durch zusätzliche Streßinduktion gesteigert werden. Dazu wurde der Affe, nach Löschen des Lichts, mit

Tabelle 4

Versuchsplan-Übersicht

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Spezies	C.j.+	C.j.+	C.j.+	S.f.*	S.f.*	C.j.+	C.j.+	S.f.*
Gewicht des Affen (g)	480	480	370	360	360	460	480	360
Vitamin C-Gehalt der Diät (ppm)	250	250	250	250	250	4000	4000	4000
1-14C-Ascorbinsäure (kBq/100g KG)	58	58	58	58	58	58	58	58
Versuchsdauer (h)	264	264	96	264	96	264	312	264
besondere Bedingungen	nicht gewöhnt	+Streß-induktion	Gewichtsverlust von 110g vor Versuch	nicht gewöhnt	gewöhnt			

+ *Callithrix jacchus*, "Dino"* *Saguinus fuscicollis*, "Rasputin"

einer Taschenlampe in kurzen Intervallen gezielt angestrahlt. Während der Zeit der Dunkelheit wurde der Affe von der Sitzstange mit einem Stäbchen mehr oder weniger verdrängt.

Diese "Belästigungen" dauerten nur wenige Minuten und wurden in unregelmäßigen Abständen, ca. 2-3 mal pro Stunde, von einer dem Affen nicht vertrauten Person durchgeführt. Zwischendurch wurde bloß das Licht kurz ausgeschaltet, da davon auszugehen war, daß der Affe auf diesen Reiz schon konditioniert war.

In den darauf folgenden Versuchen III und IV sollte die Ausscheidung von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ unter stressarmen Bedingungen untersucht werden. Beide Tiere sollten deswegen eine Woche vor Versuchsbeginn mit den Versuchsbedingungen vertraut gemacht werden, indem ihr Käfig neben die Stoffwechselkammer gestellt und sie jeden Tag für immer längere Zeiten in die Kammer gesetzt wurden. Zudem sollten die im Raum notwendigen Arbeiten immer zum selben Zeitpunkt erledigt und keine dem Affen fremde Personen in den Raum gelassen werden.

Die Diät, die in den ersten Versuchen verabreicht werden sollte, bedeutet eine Marginalversorgung mit Vitamin C, da der Vitamin C-Bedarf der Krallenenaffen erst bei einer Diät mit 500 ppm Vitamin C sicher gedeckt wird (KERN, 1986). Die in der Kolonie verabreichte Diät mit 4000 ppm stellt eine Vitamin C-Hochversorgung dar. In den folgenden Versuchen sollte geklärt werden, inwiefern die aufgenommene Vitamin C-Menge bei Hochversorgung die Exkretion von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ beeinflußt.

3.1.4. Probengewinnung und -aufbewahrung

3.1.4.1. Harnproben

Harn, der von den Tieren nur spritzerweise, aber relativ häufig, abgesetzt wird, wurde von der Auffangwanne der Stoffwechselkammer bzw. des -käfigs mit 5% Metaphosphorsäurelösung in regelmäßigen Abständen mittels einer Spritzflasche abgespült. Die Wandung im Aufenthaltsbereich des Affen und die Sitzstange wurden mit destilliertem Wasser gespült. Der so gewonnene Harn wurde mit 5% Metaphosphorsäure auf ein definiertes Volumen aufgefüllt, gemischt und bis zur weiteren Analyse bei -20°C tiefgefroren.

3.1.4.2. Kotproben

Kot wurde in regelmäßigen Abständen eingesammelt und unverzüglich bei -20°C tiefgefroren. Die Trennung von Kot und Urin wurde durch die meist gute Formung des Kotes (Trockensubstanzanteil 35% bis 40%) erleichtert. Die Fäzes wurden 72 Stunden lang lyophilisiert, dann gewogen und pulverisiert.

3.1.5. Analytische und radiometrische Methoden

3.1.5.1. Vitamin C-Bestimmung im Harn

Zur Bestimmung des Vitamin C-Gehalts im Harn wurde das Verfahren von SCHÜEPP et al. (1983), das auf Hochdruck-flüssigkeitschromatographie (HPLC) basiert, verwendet. Diese Methode wurde von KERN (1986) modifiziert und genau beschrieben. Das HPLC-System bestand aus einer Pumpe, Kontron LC Pump T 414, einem UV-Detektor mit variabler Wellenlänge, Modell 450 (WATERS Ass. Inc., Milford, USA) und einem Einspritzsystem, Modell U 6 K von WATERS. Nach Auftauen und Zentrifugieren der Proben wurde von den Harnproben 0,4 ml zur Analyse entnommen. Die in den Proben enthaltene Ascorbinsäure wurde durch Zugabe von Jod und Thioharnstoff zu Dehydroascorbinsäure oxidiert (DHHA). DHHA geht mit dem nun beigegebenen 2,4-Dinitrophenylhydrazin eine nicht näher identifizierte Verbindung ein. Die Proben wurden mit Ethylacetat, das 2% Essigsäure enthielt, extrahiert. Ein Aliquot von 10 µl dieses Extrakts wurde in das HPLC-System eingegeben und dessen Absorption nach Auftrennung durch die Säule (Hibar Lichrosorb Si 100 5 µ, Merck) bei einer Wellenlänge von 500 nm gemessen. Der Eluent, ein Gemisch aus Diisopropyläther und Ethylacetat (1:1; v:v) mit 2% Essigsäure, wurde mit einer Flußrate von 1,0 ml in der Minute gepumpt.

3.1.5.2. Exhalationsradiometrie

In einem zur ^{14}C -Messung modifizierten, kontinuierlichen Tritium-Monitor (LB 106 K, BERTHOLD) wurde die ^{14}C -Aktivität der aus der Stoffwechselkammer abgesogenen Expirationsluft in einem Durchflußzählrohr gemessen (s. Abb. 3). Vor Eintritt in den Monitor wurde die Luft mittels einer Kühlfalle von Wasserdampf befreit. Der Detektor wurde mit einer Mischung (Mischungsverhältnis 1 : 2) von der zu messenden Luft und Methan als Zählgas durchströmt. Mit Hilfe einer Membranpumpe wurde die Luft durch einen Staubfilter hindurch angesaugt, in einer Mischkammer mit dem von der Vorratsflasche kommenden Zählgas gemischt und durch das Detektorvolumen geführt. Strömungsgeschwindigkeiten von Luft und Zählgas wurden mit Nadelventilen genau eingestellt und an Strömungsmessern abgelesen. Der Nutzeffekt der ^{14}C -Messung betrug dabei 12,5%. Die Meßgenauigkeit des Monitors reichte aber nur für vergleichsweise hohe Mengen an ^{14}C -Aktivität in der Luft. Er konnte deswegen nur in den ersten 8 Stunden der Versuche eingesetzt werden. Ein Schreiber zeichnete die pro 200 Sekunden gemessene Impulsrate auf. Mit Hilfe dieses Monitors sollte der zeitlich Verlauf der ^{14}C -Exhalation in den ersten 8 Stunden nach Gabe der Dosis erfaßt werden.

Gleichzeitig und nach Abschalten des Monitors allein wurde das in dem Gasgemisch enthaltene Kohlendioxid nach einer von BAGGIOLINI (1965) beschriebenen Methode absorbiert. Dazu wurde die aus dem Monitor austretende Luft durch zwei Gaswaschflaschen gepreßt, die jeweils 200 ml eines Gemisches aus Ethanolamin:Methylcellosolve (20:80, v/v) enthielten. Ethanolamin (Merck) diente als CO_2 -Absorbens, Methylcellosolve (Merck) als Lösungsvermittler zwischen dem apolaren Ethanolamin und der später zugegebenen polaren Szintillatorflüssigkeit. Nach bestimmten Meßzeiträumen

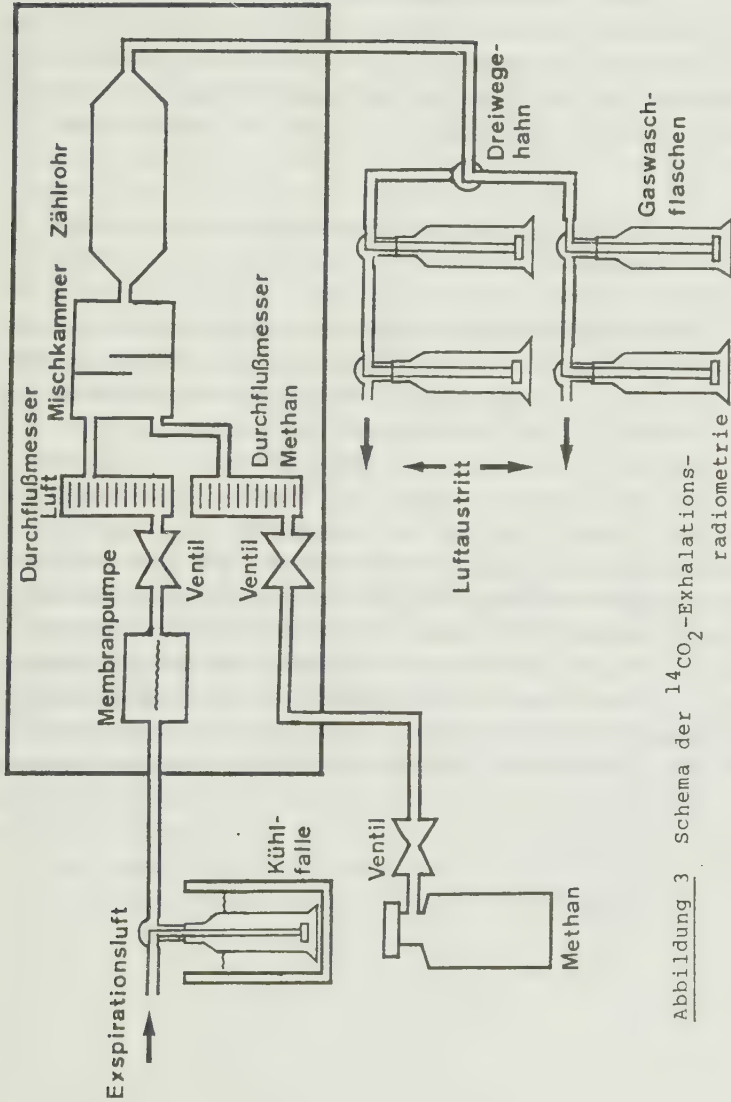


Abbildung 3 Schema der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalationsradiometrie

wurde der Luftstrom mittels eines Dreiwegehahns auf zwei andere Gaswaschflaschen umgeschaltet.

Aus beiden Flaschen wurden jeweils 10 ml-Aliquots entnommen und deren ^{14}C -Aktivität nach Zugabe von 10 ml Szintillatorflüssigkeit (Permablend III, Packard) im Szintillationszähler gemessen. Daraus konnte die respiratorische Exkretion von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure quantitativ bestimmt werden. Diese Anordnung der Gaswaschflaschen sorgte auch dafür, daß kein $^{14}\text{CO}_2$ in die Raumluft gelangen konnte.

3.1.5.3. Aufbereitung der ^{14}C -markierten Kotproben im Sample Oxidizer

Pro Kotprobe wurden zwei Aliquots von etwa 50 mg in einem Sample Oxidizer (Tri-Carb^R Sample Oxidizer, Modell 3385; Packard) aufbereitet. Dieser trennt automatisch durch vollständige, nicht katalytische Verbrennung ^3H -und ^{14}C -markierte Proben für den Flüssigkeitsszintillationszähler auf. Da unsere Proben nur ^{14}C -Aktivitäten enthielten, genügte es, das entstehende $^{14}\text{CO}_2$ in Absorptionslösung (7 ml Carbo-Sorb^R; Packard) aufzufangen und nach Zusatz von Szintillationsflüssigkeit (12 ml Permaflour^R; Packard) zu messen. Zwischendurch wurden mehrmals bestimmte Mengen eines ^{14}C -Standards mit bekannter Aktivität verbrannt und ausgezählt, um die Ausbeute (%), d.h. den beim Verbrennungs- und Zählvorgang auftretenden ^{14}C -Aktivitätsverlust der Proben, feststellen zu können.

3.1.5.4. ^{14}C -Aktivitätsmessung im Flüssigkeits- szintillationszähler

Für die Messung der ^{14}C -Aktivität stand ein Flüssigkeitsszintillationszähler (Tri-Carb^R, Modell 3385; Packard) zur Verfügung. Jeweils 1 ml der mit Metaphosphorsäure verdünnten Harnproben wurden, mit 15 ml Szintillationsflüssigkeit (Insta-Gel; Packard) gemischt, gemessen. Zur Feststellung des Anteils nicht verstoffwechselter Ascorbinsäure an der gesamten im Urin enthaltenen ^{14}C -Aktivität wurde die Vitamin C-Fraktion aus dem HPLC in Zählfläschchen aufgefangen und, mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Quickszint 212, Zinsser) versetzt, gemessen. Die Aktivität in den Proben wurde aus der gezählten, auf Nulleffekt korrigierten, Impulsrate anhand einer Eichkurve berechnet, die durch ^{14}C -Quench Standards (Beckman Instruments, Fullerton) erstellt wurde.

3.1.5.5. Berechnungen

Die Auswertung bezüglich der kinetischen Parameter der Ergebnisse erfolgte anhand von ^{14}C -Ganzkörperretentionskurven. Die retinierte ^{14}C -Aktivität wurde durch Abziehen des in Urin, Expirationsluft und Kot ausgeschiedenen Prozentsatzes der verabreichten Dosis $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure berechnet. Dazu wurden nur die Daten der jeweils ersten vier Versuchstage herangezogen, da bis dahin von allen Versuchen Daten vorliegen. Um den Berechnungsfehler, der durch das Fehlen einer $^{14}\text{CO}_2$ -Messung am dritten Versuchstag entstand, zu korrigieren, wurden die entsprechenden Werte durch Interpolieren abgeschätzt.

Der zeitabhängigen Abnahme der Ganzkörperretention wurde zur mathematischen Beschreibung eine 2-fach biexponentielle Retentionskurve folgender Form zugrundegelegt:

$$R(t) = A_1 e^{-\lambda_1 t} + A_2 e^{-\lambda_2 t}$$

Die Berechnung der Parameter der Kurven wurde mit Hilfe eines Kurvenanpassungsprogramms nach BERG (1987) an einem Tectronix-Graphik-Computer (Mod. 4052) durchgeführt.

Der Nutzeffekt n der ^{14}C -Messung durch den Monitor wurde aus der gemessenen Impulsrate I (Imp./h) und der in den Gaswaschflaschen absorbierten ^{14}C -Aktivität a (dpm/h) nach folgender Gleichung ermittelt:

$$n = \frac{I \cdot 100}{a}$$

Die pro Zeiteinheit ausgeatmete ^{14}C -Aktivität b (%/200 sec) in den ersten 8 Stunden wurde anhand folgender Gleichung aus dem Nutzeffekt n und der Impulsrate i (Imp./200 sec) und der gegebenen Dosis D (kBq $\times 2,2 \times 10^6/37$) ermittelt:

$$b = \frac{100 \cdot i \cdot 100}{n \cdot D}$$

Der prozentuale Anteil A der ausgeschiedenen ^{14}C -Aktivität c (dpm) in den drei Exkretionswegen an der verabreichten Dosis $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ (kBq $\times 2,2 \times 10^6/37$) wurde anhand folgender Gleichung errechnet:

$$A = \frac{100 \cdot c}{D}$$

3.2. ERGEBNISSE

In Versuch I wurde der *Callithrix jacchus* einer hohen physischen und psychischen Belastung ausgesetzt, indem er erst unmittelbar vor Versuchsbeginn aus dem Tierstall in den Versuchsraum gebracht und sofort nach Applikation der radioaktiv markierten Ascorbinsäure in die ungewohnte Stoffwechselkammer gesetzt wurde. Die Diät enthielt 250 ppm Vitamin C.

Der Affe reagierte auf die ungewohnte Umgebung, die räumliche Einengung und die häufige Anwesenheit von Menschen im Raum mit unruhigem und nervösem Verhalten. Bei diesem Versuch wurde über die drei Exkretionswege annähernd gleich viel ausgeschieden. In Tabelle 5 sind die in den jeweiligen Zeitabschnitten darin gemessenen prozentualen Anteile an der verabreichten Dosis angegeben. Aus Abbildung 6 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. In den ersten 24 Stunden wurde mit 25,5% der l-¹⁴C-AA die Hauptmenge ausgeschieden. Bereits wenige Minuten nach Verabreichung der radioaktiven Dosis konnte ¹⁴CO₂ in der Atemluft festgestellt werden. Wie die Abbildung 5 zeigt, erreichte die Ausscheidung von ¹⁴CO₂ nach 2 Stunden ein Maximum. Die im halblogarithmischen Maßstab dargestellte ¹⁴CO₂-Ausscheidungskurve in Abbildung 4 läßt nach Überschreiten des Maximums einen nahezu monoexponentiellen Verlauf erkennen. Der Anteil der Oxidation zu ¹⁴CO₂ an der Elimination des l-¹⁴C-AA betrug in den ersten 24 Stunden 8,7%, am 2.Tag 0,7% und am 11.Tag nur noch 0,09%.

Im Urin erschienen innerhalb von 6 Stunden 4,4% der verabreichten Dosis. Nach 24 Stunden machte die ¹⁴C-Aktivität im Urin insgesamt 6,2% der Dosis aus. Ab da lagen die im Urin, der im Durchschnitt 0,2 mg unmetabolisierte

AA/Tag enthielt, wiedergefundenen ^{14}C -Aktivitäten deutlich über denen in der Expirationsluft. Die ^{14}C -Aktivität lag dabei nicht als Ascorbinsäure vor.

Die fäkale ^{14}C -Exkretion war zwischen der 9. und der 24. Stunde am höchsten. Der Kot, den der Affe in diesem Zeitraum absetzte, enthielt eine ^{14}C -Aktivität, die 8,1% der Dosis entsprach. Am 2. Versuchstag betrug der Anteil der AA-Elimination im Kot noch 2%. Ab diesem Zeitpunkt konnten nur noch geringe Mengen von ^{14}C -Aktivität im Kot nachgewiesen werden.

Ab dem 4. Versuchstag in der Atemluft bzw. ab dem 3. Versuchstag in Urin und Kot, schied Dino in der Zeit von 17⁰⁰ Uhr bis 9⁰⁰ Uhr deutlich höhere ^{14}C -Aktivitäten aus als untertags von 9⁰⁰ Uhr bis 17⁰⁰ Uhr.

Tabelle 5

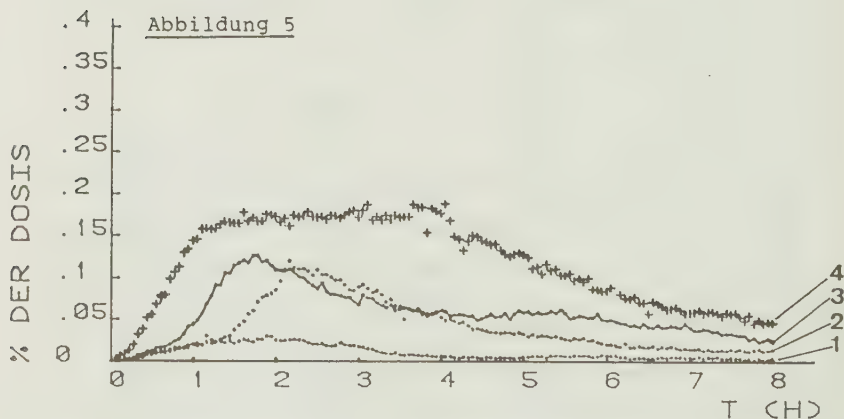
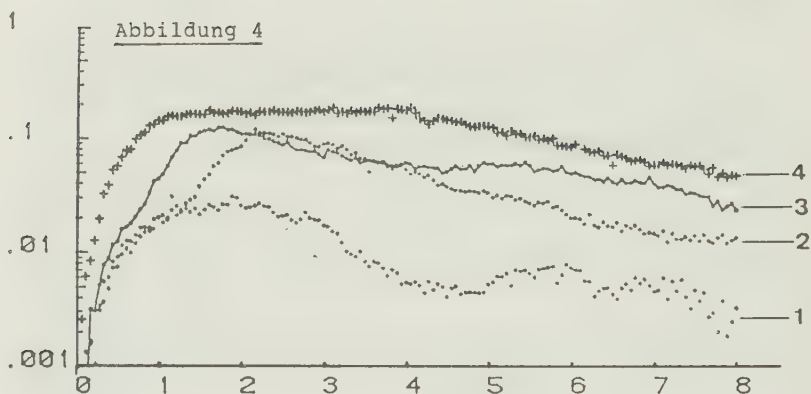
Versuch I

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure bei 250 ppm AA in der Diät bei "Dino" (C.jacchus)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	0,18	1,74	0,07
1 - 2	1,09		1,47
2 - 3	2,09		
3 - 4	1,64	2,67	—*
4 - 6	1,59		
6 - 8	0,97		
8 - 24	1,15	1,83	8,11
24 - 32	0,38	0,52	1,42
32 - 48	0,33	0,98	0,58
48 - 56	k.M.	0,45	0,05
56 - 72		0,91	0,21
72 - 80	0,04	0,58	0,13
80 - 96	0,13	0,71	0,15
96 - 168	k.M.	2,58	0,31
168 - 192		0,70	0,15
192 - 216		0,82	0,12
216 - 240		0,54	0,11
240 - 248	0,02	0,18	0,06
248 - 264	0,07	0,32	0,10

* = kein Kotabsatz
k.M. = keine Messung

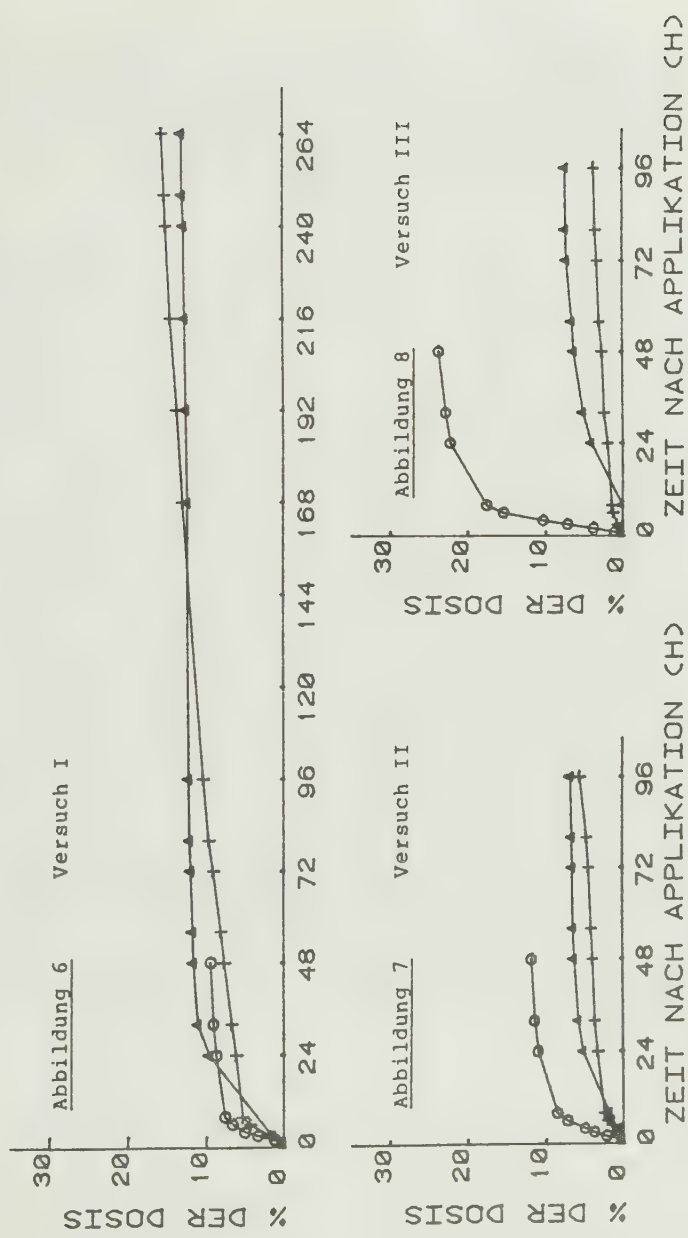
Gesamtwiederfindung: 38,07%



Zeitlicher Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in % einer oral
gegebenen Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure pro 200 Sekunden in den
ersten 8 Stunden bei "Dino" (C.jacchus) in linearer (Abb. 5)
und semilogarithmischer Auftragung (Abb. 4)

- | | |
|--|--|
| 1: Versuch VI, 4000 ppm Vit. C | 3: Versuch II, 250 ppm Vit.
mit Streßinduktion |
| 2: Versuch I, 250 ppm Vit. C
ohne Gewöhnung | 4: Versuch III, 250 ppm Vit.
nach Gewichtsverlust |

Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral gegebenen Dosis $1\text{--}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure, in der Expirationsluft (o), in Urin (+) und Kot (Δ) bei 250 ppm AA in der Diät bei "Dino" (C.jacchus)



Die Messung von $^{14}\text{CO}_2$ wurde nur in den ersten 48 Stunden kontinuierlich durchgeführt

In Versuch II wurde angestrebt, denselben Affen zusätzlichem Streß auszusetzen. Es sollte insbesondere geprüft werden, ob die Oxidation zu Kohlendioxid, in % der Dosis, durch Streßinduktion gesteigert werden kann. Der Vitamin C-Gehalt der Diät betrug wiederum 250 ppm.

In diesem Versuch verhielt "Dino" sich noch unruhiger und ängstlicher als im ersten Versuch. Die Exhalation als $^{14}\text{CO}_2$ stellte sich diesmal als Hauptausscheidungsweg dar. Die ^{14}C -Aktivität, die in Urin und Kot gefunden wurde, war jeweils nicht einmal halb so hoch. Die in den 4 Tagen des Versuchs gemessenen Anteile der ^{14}C -Aktivitäten an der verabreichten Dosis in den 3 Exkretionswegen sind in Tabelle 6 wiedergegeben. Aus Abbildung 7 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. Im Verlauf von 48 Stunden nach Aufnahme von ^{14}C -AA exhalierte der Affe 11,8% des ^{14}C -AA in Form von $^{14}\text{CO}_2$. Urin und Kot trugen im selben Zeitraum mit 3,7% beziehungsweise 5,8% zur ^{14}C -AA-Ausscheidung bei. Allerdings sank die Exkretion in der Atemluft schneller ab, so daß am 4. Tag die Exkretion im Urin überwog. Der Harn enthielt in 24 Stunden im Durchschnitt 0,1 mg unmetabolisierte AA. Im Kot wurden ab dem 3. Tag nur noch geringe ^{14}C -Aktivitäten nachgewiesen. Das Exhalationsmaximum trat, wie die Abbildung 5 veranschaulicht, in der 2. Stunde auf, die maximale Exkretion im Urin in den ersten drei Stunden und in den Fäzes zwischen der 5. und 6. Stunde nach Applikation von ^{14}C -AA.

Tabelle 6

Versuch II

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure bei 250 ppm AA in der Diät bei "Dino" (C.jacchus)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	0,28	1,25	0,07
1 - 2	1,88		—
2 - 3	1,56		
3 - 4	1,22	0,81	0,69
4 - 6	2,21		0,87
6 - 8	1,33	0,38	0,32
8 - 24	2,50	0,85	3,28
24 - 32	0,43	0,42	0,64
32 - 48	0,42	0,22	0,53
48 - 56	k.M.	0,19	0,15
56 - 72		0,32	0,08
72 - 80	0,19	0,31	0,08
80 - 96	0,27	0,73	0,16

* = kein Kotabsatz
k.M. = keine Messung

Gesamtwiederfindung: 24,57%

Vor Beginn des Versuches III hatte "Dino" mehr als 100 g KG innerhalb von 3 Wochen verloren. Daher konnte der ursprüngliche Plan, eine Wiederholung von Versuch I, aber nach Gewöhnung an die Versuchsprozeduren, durchzuführen, nicht verwirklicht werden. Es bot sich aber dadurch die Gelegenheit zu testen, ob und wie sich der Katabolismus von Ascorbinsäure nach einem Gewichtsverlust dieser Größenordnung, der nur durch Krankheit oder massiven Streß zu erklären ist, ändert. Die Diät enthielt 250 ppm Vitamin C.

Das Allgemeinbefinden des Tieres schien zwar ungestört, doch zeigte es trägere Reaktionen und war weniger bewegungsaktiv. Öfter als in den vorangegangenen Versuchen setzte der Affe dünnbreiigen Kot ab. Die Exkretion in der Ausatemungsluft übertraf mit 24,6% der Dosis in 4 Tagen bei weitem die Ausscheidung im Urin mit 3,7% und im Kot mit 7,4% im gleichen Zeitraum. Die in den 4 Versuchstagen gemessene prozentuale Ausscheidung in Expirationsluft, Urin und Kot ist in Tabelle 7 angegeben. Aus Abbildung 8 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. Das Maximum der Expiration trat erst, wie die Abbildung 5 zeigt, in der 3. Stunde auf. Danach exhalierte "Dino" noch ca. 1 1/2 Stunden lang nahezu gleichbleibend hohe Anteile der Dosis. Die höchsten ^{14}C -Aktivitäten im Urin wurden in der Urinprobe der ersten drei Stunden und im Kot zwischen der 9. und 24. Stunde gefunden. Im Urin, der in 24 Stunden durchschnittlich 0,1 mg unmetabolisierte AA enthielt, lag die ^{14}C -Aktivität in Ascorbinsäure unter der Bestimmungsgrenze.

Tabelle 7

Versuch III

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure bei 250 ppm AA in der Diät bei "Dino" (*C.jacchus*)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	1,1	0,80	—*
1 - 2	2,72		0,01
2 - 3	3,35		
3 - 4	3,16	0,48	—*
4 - 6	5,06		
6 - 8	2,20	0,22	0,05
8 - 24	4,70	0,54	4,07
24 - 32	0,62	0,44	1,07
32 - 48	0,90	0,26	1,15
48 - 56	k.M.	0,30	0,24
56 - 72		0,31	0,68
72 - 80	0,35	0,20	0,12
80 - 96	0,45	0,20	0,02

* = kein Kotabsatz
k.M. = keine Messung

Gesamtwiederfindung: 35,77%

In Versuch IV wurde "Rasputin" (*Saguinus fuscicollis*) einer hohen physischen und psychischen Belastung ausgesetzt, indem er, ebenso wie "Dino" in Versuch I, erst unmittelbar vor Versuchsbeginn aus dem Tierstall in den Versuchsraum gebracht und sofort nach Applikation der radioaktiv markierten Ascorbinsäure in die ungewohnte Stoffwechselkammer gesetzt wurde. Der Vitamin C-Gehalt der Diät betrug 250 ppm. Die Bedingungen entsprachen also Versuch I mit "Dino".

Der Affe verhielt sich die ganze Zeit sehr unruhig, nervös und unternahm fortwährend Versuche, aus der Kammer zu gelangen. Die Verteilung der Exkretion in % der Dosis auf die drei Exkretionswege ist in Tabelle 8 angegeben. Aus Abbildung 11 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. Der Hauptauscheidungsweg war die Expiration. Rasputin atmete in den ersten zwei Versuchstagen 17,9% der Dosis als $^{14}\text{CO}_2$ aus. Wie in der graphischen Auftragung der Aktivitätsausscheidung in der Expirationsluft in Abbildung 10 erkennbar ist, erreichte die respiratorische Exkretion nach 1 Stunde ein Maximum. Nach Überschreiten des Maximums verläuft diese in der halblogarithmischen Darstellung, die Abbildung 9 wiedergibt, nahezu linear. Die Expirationsluft dieses Affen enthielt ab dem 4. Versuchstag in der Zeit von 17⁰⁰Uhr (eine Stunde vor Ende der Lichtphase) bis 9⁰⁰Uhr (3 Stunden nach Beginn des Lichttages) regelmäßig eine fast doppelt so hohe $^{14}\text{CO}_2$ -Aktivität als in den Tagstunden von 9⁰⁰Uhr bis 17⁰⁰Uhr.

Dieselbe Rhythmik zeigte sich, mit einer Ausnahme, auch in der ^{14}C -Exkretion im Urin. Nach 3 Stunden hatte der Affe 1,9% der Dosis im Urin ausgeschieden, nach 2 Tagen 6,3%. In allen Urinproben war die ^{14}C -Aktivität in der

AA-Fraktion nach Auftrennung im HPLC zu gering für eine eindeutige Zuordnung. Der Gehalt an unmetabolisierter AA in 24 Stunden betrug durchschnittlich 0,1 mg. Ab dem 3. Versuchstag wurden im Urin höhere ^{14}C -Aktivitäten gemessen als in der Expirationsluft.

Auch bei diesem Affen war die ^{14}C -Aktivität in dem Kot, den er zwischen der 9. und 16. Stunde nach Versuchsbeginn ausschied, am größten. Nach 2 Tagen fanden sich im Kot 11,5% der applizierten Dosis wieder. Ab da wurden in den Fäzes nur noch geringe ^{14}C -Aktivitäten gemessen, die stets unter denen in Atemluft und Urin lagen.

Tabelle 8

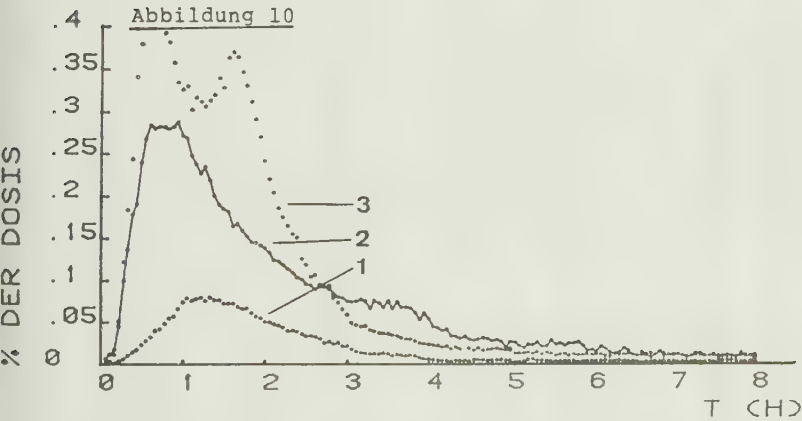
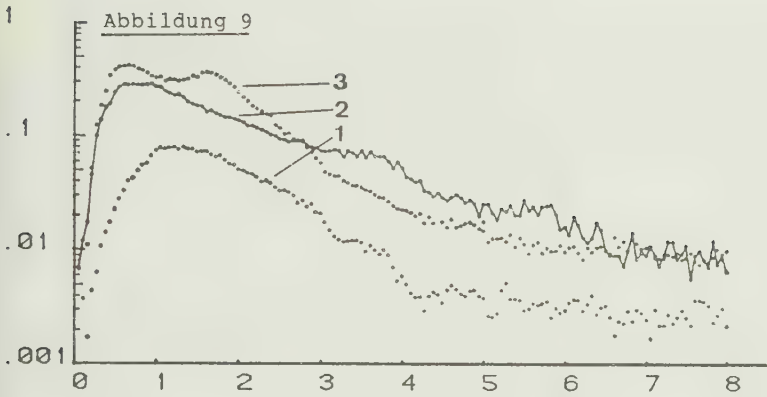
Versuch IV

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei 250 ppm AA in der Diät bei "Rasputin" (*S.fuscicollis*)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	4,04	1,89	— *
1 - 2	6,28		
2 - 3	2,70		
3 - 4	1,12	1,02	2,50
4 - 6	0,86		
6 - 8	0,62	0,64	— *
8 - 24	0,84	1,10	8,36
24 - 32	0,78	0,71	0,37
32 - 48	0,45	0,90	0,23
48 - 56	k.M.	0,41	0,12
56 - 72		0,57	0,09
72 - 80	0,18	0,56	0,05
80 - 96	0,37	0,42	0,09
96 - 168	k.M.	0,76	0,33
168 - 192		0,39	0,05
192 - 216		0,36	0,05
216 - 240		0,31	0,07
240 - 248	0,08	0,10	0,03
248 - 264	0,08	0,19	0,02

* = kein Kotabsatz
k.M. = keine Messung

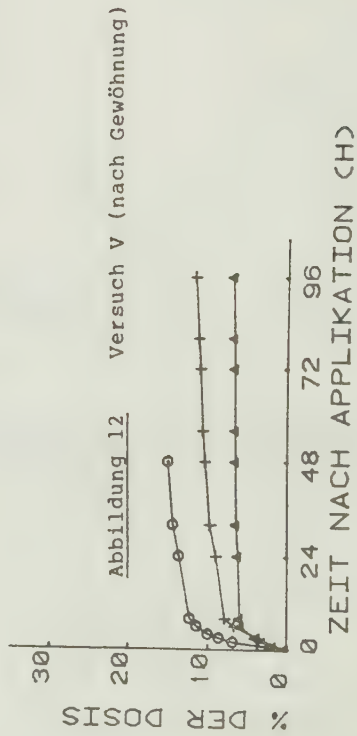
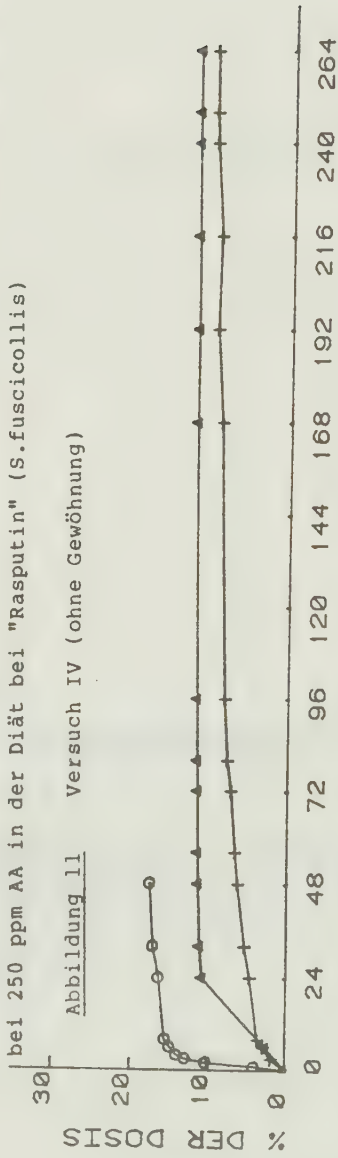
Gesamtwiederfindung: 40,09%



Zeitlicher Verlauf der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in % einer oral gegebenen Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure pro 200 Sekunden in den ersten 8 Stunden bei "Rasputin" (*S.fuscicollis*) in linearer (Abb. 10) und semilogarithmischer Auftragung (Abb. 9)

- 1: Versuch VIII, 4000 ppm Vit. C 3: Versuch IV, 250 ppm Vit. C
ohne Gewöhnung
- 2: Versuch V, 250 ppm Vit. C
nach Gewöhnung

Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral gegebenen Dosis $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure, in der Expirationsluft (o), in Urin (+) und Kot (Δ) bei 250 ppm AA in der Diät bei "Rasputin" (*S.fuscicollis*)



Die Messung von $^{14}\text{CO}_2$ wurde nur in den ersten 48 Stunden kontinuierlich durchgeführt

Vor Beginn von Versuch V wurde "Rasputin" eine Woche lang an die Versuchsbedingungen gewöhnt. Er wurde mit allen Prozeduren vertraut gemacht und täglich für einen immer längeren Zeitraum in die Stoffwechselkammer gesetzt. Damit sollte ein möglicher Einfluß von Streß auf den Vitamin C-Metabolismus weitgehend reduziert werden. Die Diät enthielt 250 ppm Vitamin C.

Der Hauptausscheidungsweg war auch in diesem Versuch die Exhalation. In Tabelle 9 sind die in den jeweiligen Zeitabschnitten gemessenen Anteile an der Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure in den 3 Exkretionswegen wiedergegeben. Aus Abbildung 12 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. Die Exhalation von $^{14}\text{CO}_2$ in den ersten 8 Stunden ist in Abbildung 10 dargestellt. Innerhalb der ersten 2 Versuchstage schied "Rasputin" auf diesem Weg 15,4% der verabreichten Dosis aus. Im Urin erschienen im selben Zeitraum 10,4 % der Dosis. Im Kot schied der Affe nach 48 Stunden 6,54% der Dosis aus. Der Urin enthielt in 24 Stunden durchschnittlich 0,3 mg unmetabolisierte AA, in der keine ^{14}C -Aktivität nachweisbar war.

Tabelle 9

Versuch V

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei 250 ppm AA in der Diät bei "Rasputin" (*S.fusciicollis*)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	3,12	3,53	1,74
1 - 2	3,70		2,27
2 - 3	1,77		
3 - 4	1,37	3,10	1,76
4 - 6	1,40		
6 - 8	0,89	1,26	0,18
8 - 24	1,38	1,10	0,27
24 - 32	0,82	0,77	0,22
32 - 48	0,67	0,65	0,10
48 - 56	k.M.	0,33	0,08
56 - 72		0,39	0,12
72 - 80	0,53	0,27	0,11
80 - 96	0,39	0,37	0,15

k.M. = keine Messung

Gesamtwiederfindung: 34,81%

In Versuch VI erhielt "Dino" (*Callithrix jacchus*) eine Diät, die 4000 ppm Vitamin C enthielt. Es sollte untersucht werden, ob und wie sich die Ausscheidung von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure bei einer sehr hohen Vitamin C-Zufuhr ändert.

In diesem Versuch erwies sich die Ausscheidung über die Nieren als der Hauptausscheidungsweg. In Tabelle 10 ist die prozentuale Ausscheidung der verabreichten radioaktiv markierten Ascorbinsäure in den jeweiligen Zeiträumen in den 3 Exkretionswegen angegeben. In Abbildung 13 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, dargestellt. Der Affe atmete mit 2,5% innerhalb der ersten 48 Versuchsstunden nur einen geringen Anteil der Dosis als $^{14}\text{CO}_2$ aus. Dagegen nahm die Exkretion im Urin den höchsten Anteil ein. Nach 3 Stunden schon entsprach die im Urin wiedergefundene ^{14}C -Aktivität 43,7% der oral gegebenen Dosis. Die spezifische ^{14}C -Aktivität wurde zu 71% in AA wiedergefunden. Im Urin der folgenden Sammelperiode (4. - 7. Stunde) wurden 70,3% der ^{14}C -Aktivität als nicht verstoffwechselte $1\text{-}^{14}\text{C}$ -AA identifiziert. Im Sammelurin der folgenden Zeitabschnitte waren die ^{14}C -Aktivitäten zu gering, um eine spezifische Aktivität in AA feststellen zu können. Während in den ersten beiden Tagen des Versuches alle Urinproben höhere ^{14}C -Aktivitäten enthielten als bei den vorangehenden Versuchen mit AA-Marginalversorgung, wurden ab dem 3. Tag jeweils geringere Anteile der Dosis darin wiedergefunden. Der Urin enthielt im Durchschnitt 5,8 mg unmetabolisierte AA/Tag. Der Affe schied innerhalb von 2 Tagen 9,8% der Dosis im Kot aus.

Tabelle 10

Versuch VI

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei 4000 ppm AA in der Diät bei Dino (*C.jacchus*)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	0,20	40,76	— *
1 - 2	0,41		
2 - 3	0,39		
3 - 4	0,29	3,01	0,24
4 - 6	0,30		
6 - 8	0,24	1,51	0,72
8 - 24	0,36	1,67	6,41
24 - 32	0,21	0,93	0,84
32 - 48	0,15	0,47	1,55
48 - 56	k.M.	0,16	0,19
56 - 72		0,31	0,10
72 - 80	0,14	0,13	0,08
80 - 96	0,20	0,19	0,06
96 - 168	k.M.	0,41	0,20
168 - 192		0,12	0,04
192 - 216		0,13	0,06
216 - 240		0,09	0,03
240 - 248	0,01	0,13	0,002
248 - 264	0,008	0,15	0,02

* = kein Kotabsatz
k.M. = keine Messung

Gesamtwiederfindung: 63,64%

In Versuch VII herrschten diesselben Bedingungen wie in Versuch VI. Allerdings wurden teilweise andere Meßzeiträume gewählt.

Die Ergebnisse bestätigten in etwa die Daten der Exkretion in Expirationsluft und Urin. Die prozentuale Ausscheidung in den jeweiligen Zeiträumen ist aus Tabelle 11 zu ersehen. Im Urin, der durchschnittlich in 24 Stunden 5,9 mg unmetabolisierte AA enthielt, wurden nach 3 Stunden 57,3% der Dosis wiedergefunden, im Kot der ersten 48 Stunden lediglich 2,2% .

Tabelle 11

Versuch VII

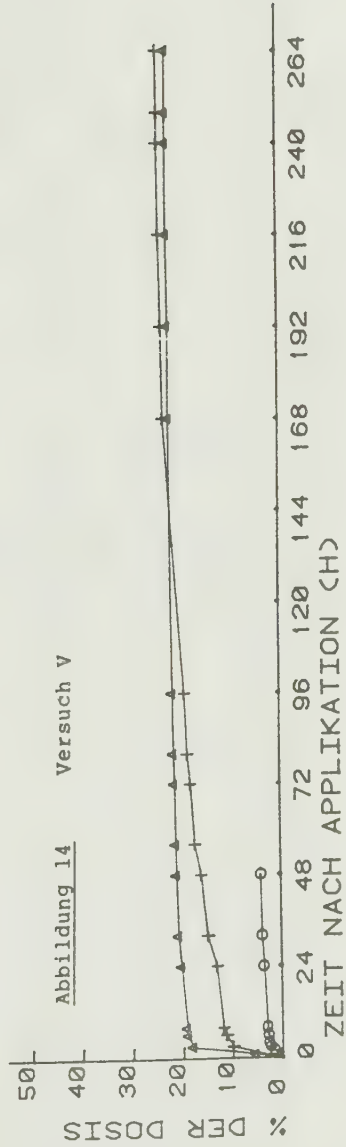
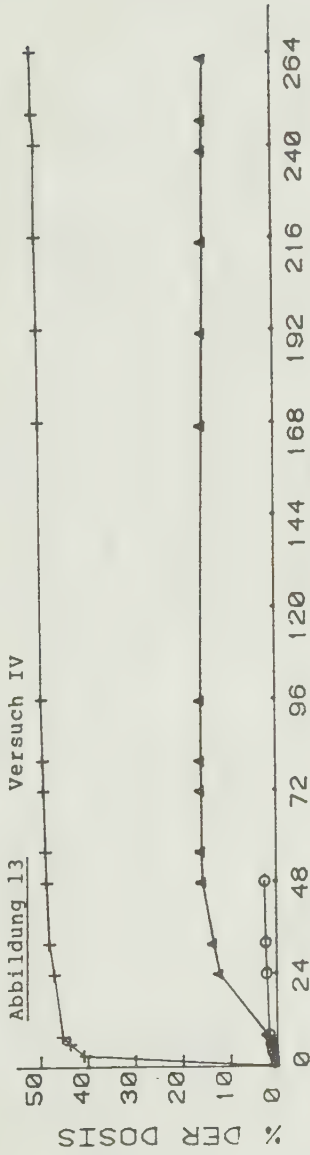
Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei 4000 ppm AA in der Diät bei "Dino" (C.jacchus)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	0,16	57,34	0,01
1 - 2	0,45		1,12
2 - 3	0,42		
3 - 4	0,20	3,64	0,01
4 - 6	0,23		
6 - 8	0,22	1,37	—*
8 - 24	0,36	1,56	0,88
24 - 32	0,16	1,92	0,09
32 - 48	0,11	0,48	0,06
48 - 120	k.M.	k.M.	0,15
120 - 128	0,004	0,15	0,03
128 - 144	0,004	0,11	
144 - 168	k.M.	0,07	0,03
168 - 192		0,10	0,02
192 - 216		0,07	0,05
216 - 288		0,11	0,06
288 - 312	0,006	0,12	0,01

* = kein Kotabsatz
k.M. = keine Messung

Gesamtwiederfindung: 71,92%

Kumulativ aufgetragene Exkretion von ^{14}C -Aktivität, in % einer oral gegebenen Dosis $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure, in der Expirationsluft (o), in Urin (+) und Kot (Δ) bei 4000 ppm AA in der Diät bei "Dino" (C.jacchus; Abb. 13) und bei "Rasputin" (S.fuscicollis; Abb. 14)



Die Messung von $^{14}\text{CO}_2$ wurde nur in den ersten 48 Stunden kontinuierlich durchgeführt

In Versuch VIII erhielt "Rasputin" (*Saguinus fuscicollis*) eine Diät, der 4000 ppm Vitamin C beigemischt waren. Die Bedingungen entsprachen somit Versuch VI mit "Dino".

Die Ausscheidung im Urin erwies sich als der Hauptexkretionsweg. In Tabelle 12 ist die in den jeweiligen Zeitabschnitten gemessene, prozentuale Exkretion in Atemluft, Urin und Kot wiedergegeben. Aus Abbildung 14 ist der zeitliche Verlauf der Exkretion, kumulativ aufgetragen, zu ersehen. Rasputin exhalierte bei dieser Hochversorgung weniger $^{14}\text{CO}_2$ als bei der Marginalversorgung in Versuch IV, wie in Abbildung 10 deutlich zu sehen ist. Lediglich im Urin der ersten 3 Stunden, der 9,9% der Dosis enthielt, ließ sich ^{14}C -Aktivität der AA-Fraktion zuordnen und betrug 63%. Die Vitamin C-Menge im 24-Stunden Harn betrug durchschnittlich 2,6 mg. Den größten Anteil der $1\text{-}^{14}\text{C}$ -AA-Exkretion in den ersten 24 Stunden nahm mit 20,2% die Ausscheidung im Kot ein. Schon sehr früh traten hohe Aktivitäten im Kot auf. Der in diesem Zeitraum abgesetzte Kot war dünnbreiig.

Tabelle 12

Versuch VIII

Exkretion von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot in % einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure bei 4000 ppm AA in der Diät bei "Rasputin" (*S.fusciicollis*)

Zeit nach Applikation (h)	Atemluft	Urin	Kot
0 - 1	0,18	9,95	5,55
1 - 2	1,46		12,43
2 - 3	0,77		
3 - 4	0,22	1,31	0,97
4 - 6	0,21		
6 - 8	0,19	0,51	0,92
8 - 24	0,59	1,24	1,09
24 - 32	0,30	1,87	0,53
32 - 48	0,15	1,27	0,23
48 - 56	k.M.	1,19	0,20
56 - 72		0,86	0,15
72 - 80	0,19	0,52	0,13
80 - 96	0,10	0,48	0,10
96 - 168	k.M.	4,01	0,49
168 - 192		0,31	0,11
192 - 216		0,20	0,05
216 - 240		0,17	0,02
240 - 248	0,02	0,07	0,01
248 - 264	0,01	0,06	0,01

k.M. = keine Messung

Gesamtwiederfindung: 50,71%

Speziesvergleich

In allen Versuchen, in denen die beiden Affen gleichen Bedingungen unterworfen waren (Versuch I und IV, bzw. VI und VIII), zeigten sich neben einigen Gemeinsamkeiten auch deutliche Unterschiede in der Exkretion von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$. Die prozentuale Verteilung der Ausscheidungswege in den ersten 24 Stunden bei beiden Affen und in allen Versuchen ist in Tabelle 13 dargestellt. Bei beiden Tieren kam es schon wenige Minuten nach Applikation zur Ausatmung von $^{14}\text{CO}_2$. Der *Saguinus fuscicollis* atmete in jedem Zeitabschnitt höhere Anteile des markierten Kohlenstoffatoms der verabreichten Dosis in Form von $^{14}\text{CO}_2$ aus. Das Exhalationsmaximum trat bei diesem Affen schon nach einer Stunde auf, beim *C.jacchus* dagegen erst nach 2 Stunden. Die höchsten ^{14}C -Aktivitäten im Urin wurden bei beiden Affen in den ersten 6 Stunden nach Verabreichung festgestellt. Die ^{14}C -Ausscheidung über die Nieren fiel beim *C.jacchus* deutlich höher aus als beim *S.fuscicollis*. Besonders auffallend war der Unterschied bei den Versuchen mit Vitamin C-Hochversorgung: Der Gehalt an nicht verstoffwechselter Ascorbinsäure im Harn war beim *C.jacchus* mehr als doppelt so hoch wie beim *S.fuscicollis*. Dabei war die spezifische ^{14}C -Aktivität in der Ascorbinsäure in diesen Versuchen im Sammelurin der ersten 6 Stunden annähernd gleich groß. Der Hauptanteil der ^{14}C -Exkretion über die Fäzes fand bei beiden Affen in den ersten 24 Stunden nach oraler Gabe statt. Bei Hochversorgung schied der *S.fuscicollis* einen viel höheren Anteil der Dosis in den Fäzes aus.

Prozentuale Verteilung der Ausscheidungswege einer einmaligen, oral verabreichten Dosis l-14C-Ascorbinsäure in den ersten 24 Stunden bei zwei Krallenaffenarten und unter verschiedenen Bedingungen

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Spezies	C.j.+	C.j.+	C.j.+	S.f.*	S.f.*	C.j.+	C.j.*	S.f.*
Vitamin C-Gehalt der Diät (ppm)	250	250	250	250	250	4000	4000	4000
¹⁴ CO ₂	8,7	10,9	22,3	16,5	13,6	2,2	2,0	3,6
Urin(¹⁴ C)	6,2	3,3	2,0	4,7	9,0	46,9	64,0	13,0
Kot(¹⁴ C)	8,11	5,2	4,1	10,9	6,2	7,3	2,0	20,3
besondere Bedingungen	nicht gewöhnt	+Streß-induktion	Gewichtsverlust von 110g vor Versuch	nicht gewöhnt	gewöhnt			

+ *Callithrix jacchus*, "Dino"

* *Saguinus fuscicollis*, "Rasputin"

4. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden an je einem Krallenaffen der Spezies *C.jacchus* und *S.fuscicollis* quantitative Daten über die Exkretion von Ascorbinsäure bzw. deren Metaboliten in Urin, Kot und in der Exspirationsluft gewonnen. Die Verteilung der Exkretion auf die drei Ausscheidungswege bei verschieden hoher Vitamin C-Zufuhr und unter dem Einfluß von Streß sowie die Unterschiede zwischen den beiden Spezies werden im folgenden diskutiert.

Die durchgeführten Versuche zeigen, daß mit dem für diese Versuche konstruierten Stoffwechselkäfig auch bei Krallenaffen Metabolismusstudien mit der quantitativen Erfassung von Atemluft, Urin und Kot möglich sind.

Da die Exhalation, möglichst ohne Verzögerung, direkt gemessen werden sollte, mußte das Volumen der gasdichten Kammer sehr klein gehalten werden. Die damit verbundene starke räumliche Einengung in ungewohnter Umgebung und die versuchstechnischen Prozeduren stellten für die Affen sicher eine geringere Belastung dar, als die Fesselung an einen "Primatenstuhl" oder die Unterbringung in einem Ratten-Bilanzkäfig. Eine Bewertung der Streßbelastung erfolgte durch Beobachtung des Verhaltens. Andere Streßparameter, wie z.B. die Bestimmung des Cortisolspiegels im Blut, konnten aus versuchstechnischen Gründen nicht herangezogen werden.

Beide Tiere zeigten in ihren jeweils ersten Versuchen bzw. nach Streßinduktion deutlich Reaktionen, die eine vertraute Person zweifelsfrei als hohe Streßbelastung interpretieren konnte. Der *S.fuscicollis* erschien bei weitem streßempfindlicher und er gewöhnte sich augenscheinlich erst nach längerer Zeit an die Versuchsprozedur.

4.1. $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation

Bei Krallenaffen stellt die Oxidation zu Kohlendioxid mit anschließender Exhalation einen Stoffwechselweg von Ascorbinsäure dar. Die relativen Oxidationswerte zu Kohlendioxid (% der Dosis) betrugen bei dem *S.fuscicollis* 4,4% bis 18,4%, bei dem *C.jacchus* 2,3% bis 24,6%. Beide Affen atmeten schon wenige Minuten nach Applikation von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure $^{14}\text{CO}_2$ aus. In allen Versuchen verlief die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidungskurve in halblogarithmischer Transformation nach Überschreiten eines Maximums linear. Dies deutet darauf hin, daß in diesem Zeitraum Kohlendioxid allein aus einem Kompartiment stammt. Das Maximum der Exhalation trat nach 1 (*S.fuscicollis*) bzw. 2 Stunden (*C.jacchus*) auf.

Bei Meerschweinchen setzt die CO_2 -Produktion ähnlich früh ein (HORNIG and HARTMANN, 1982). Bei Mensch (HANKES et al., 1974) und Makaken (TILLOTSON, 1978) dagegen beginnt die $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation erst 5 Stunden nach Applikation von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -AA anzusteigen und erreicht erst 10 Stunden nach oraler Gabe ein Maximum. Die sehr früh einsetzende Oxidation zu CO_2 bei diesen Krallenaffen spricht für eine präsystemische Verstoffwechselung im Darm oder in der Darmwand. Weitergehende stoffwechselkinetische Studien mit Untersuchung des Verlaufs der Plasmaaktivität nach oraler Gabe von radioaktiv markierter Ascorbinsäure sowie die Beobachtung der Exkretion nach intravenöser Verabreichung könnten in der Frage nach dem Ort der CO_2 -Produktion nähere Klärung bringen.

Die Höhe der CO_2 -Exspiration aus der zugeführten Ascorbinsäure hing bei beiden Affen in gleicher Weise von ihrem Vitamin C-Status ab. Bei Hochversorgung enthielt die Expirationsluft um etwa 75% weniger $^{14}\text{CO}_2$ als bei marginaler Versorgung. Dies steht im Widerspruch zu

Ergebnissen ähnlicher Versuche mit Makaken (TILLOTSON, 1978), die keinen derartigen Einfluß erkennen ließen. Diese Affen exspirierten bei hoher Vitamin C-Versorgung mehr als bei marginaler Versorgung, nämlich bis zu 9% der Dosis in den ersten 24 Stunden nach Applikation. Beim Menschen kommt es erst dann zu einer nennenswerten $^{14}\text{CO}_2$ -Ausatmung, wenn zugleich mit 1- ^{14}C -AA eine große Einzeldosis Ascorbinsäure verabreicht wird (KALLNER et al., 1985). Die Autoren vermuten, daß die Verstoffwechslung zu CO_2 auch beim Menschen im Darm stattfindet. Geringe Mengen von Ascorbinsäure würden schnell resorbiert werden, so daß eine CO_2 -Produktion durch chemischen Abbau oder mikrobielle Zersetzung nicht mehr möglich ist.

Unterstellt man, daß bei Krallenaffen die Produktion von CO_2 aus Ascorbinsäure stets zu einem gleichen Anteil aus dem gesamten Ascorbinsäurepool im Organismus erfolgt, dann ließen sich die niedrigen relativen Oxidationswerte (% der Dosis) in den Versuchen mit hoher Versorgung erklären. Dies setzt allerdings voraus, daß die Oxidation zu CO_2 erst nach der Resorption aus dem Darm stattfindet.

Die respiratorische Ausscheidung als Kohlendioxid steht auch unter dem Einfluß von Stress und Krankheit. Menschen, die an Häm siderose erkrankt waren, atmeten nahezu 50% einer Dosis ^{14}C -markierter Ascorbinsäure als $^{14}\text{CO}_2$ aus (HANKES et al., 1974). Ein rascher Decarboxylierungsprozeß könnte, wie die Autoren vermuten, den beschleunigten, oxidativen Ascorbinsäureabbau oder -umbau verursacht haben. Makaken (*Macaca fascicularis*), die nicht an die physischen und psychischen Belastungen der Versuchsprozeduren im Vorhinein gewöhnt worden waren, atmeten bis zu 90% einer oral verabreichten Dosis 1- ^{14}C -Ascorbinsäure in Form von $^{14}\text{CO}_2$ aus (TILLOTSON, 1978).

Im Rahmen einer Kolonieuntersuchung mit verschiedenen Spezies von Krallenenaffen fand KERN (1986), daß kranke Tiere, im Vergleich zu gesunden, erheblich niedrigere Serumascorbatspiegel aufwiesen. Dies deutet auf einen vermehrten Vitamin C-Katabolismus unter erhöhten physischen und psychischen Belastungen hin.

Beim Vergleich der $^{14}\text{CO}_2$ -Exhalation in den verschiedenen Versuchen fällt auf, daß unter Streßbedingungen der Anteil der respiratorischen Exkretion erhöht war. Der Prozentsatz der Ausatmung war bezeichnenderweise beim C.jacchus am höchsten, nachdem er in der Woche zuvor mehr als 100 g KG verloren hatte. Die wahrscheinlichste Erklärung für diesen Gewichtsverlust ist, daß der Affe zu diesem Zeitpunkt ernsthaft erkrankt war. Und dies war vermutlich die Ursache des erhöhten oxidativen Abbaus von AA zu Kohlendioxid.

Die Steigerung der CO_2 -Exspiration durch Streß fiel allerdings in keinem Versuch so hoch aus wie bei den erwähnten Studien an Makaken. Es ist denkbar, daß die dort praktizierte völlige Immobilisierung über mehrere Tage durch Fesselung an einen Primatenstuhl, ohne vorangehende Gewöhnung, eine viel schwerwiegendere physische und psychische Belastung für die Affen darstellte, als die maximal 2-tägige Unterbringung der Krallenenaffen in unserer Stoffwechselkammer.

Affen der Spezies S.fuscicollis wirken sehr viel ängstlicher, nervöser und damit streßanfälliger als C.jacchus. Darauf dürfte der viel höhere Anteil der Exspiration an der Exkretion in den vergleichbaren Versuchen beruhen. Dies trägt sicher mit dazu bei, daß die streßanfälligere Spezies S.fuscicollis einen sehr viel niedrigeren Vitamin C-Serumspiegel gegenüber C.jacchus bei gleicher Vitamin C-Aufnahme aufweist (KERN, 1986).

Der Verlauf der Exhalation von $^{14}\text{CO}_2$ ist bei beiden Affenarten qualitativ gleich. Die Hauptmenge wird bei beiden in den ersten 24 Stunden ausgeatmet. Auch nach 11 Tagen wurden noch meßbare, wenn auch geringe, Mengen von $^{14}\text{CO}_2$ ausgeatmet. Daraus könnte gefolgert werden, daß bei Krallenaffen die Exhalation einen metabolischen Weg darstellt. Es erscheint aber nach wie vor unklar, wie Streß den Katabolismus von Vitamin C, vermutlich im Darm oder in der Darmwand, derart stark erhöhen kann.

4.2. ^{14}C -Exkretion im Urin

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, daß die Exkretion über die Nieren bei Krallenaffen ein rascher und wirksamer Mechanismus zur Ausscheidung von AA und deren Metaboliten ist. Sowohl bei Marginal- wie auch bei Hochversorgung wurden in den ersten 6 Stunden nach oraler Aufnahme von 1- ^{14}C -Ascorbinsäure die höchsten ^{14}C -Aktivitäten im Urin wiedergefunden. Bei Hochversorgung wurde bei beiden Affenspezies im Sammelurin der ersten 6 Stunden mit ca. 70% der größte Teil der spezifischen ^{14}C -Aktivität in Ascorbinsäure wiedergefunden. Auf diesem Versorgungsniveau überwog bei beiden Affenspezies die Exkretion im Urin bei weitem die Ausscheidung in Kot und Expirationluft. Überschüssige AA wird also bei Hochversorgung sehr schnell unverstoffwechselt über die Nieren wieder ausgeschieden. Daher kann der AA-Gehalt einzelner Urinproben kein verlässlicher Parameter für den Vitamin C-Status von Krallenaffen sein, da er unmittelbar von der Vitamin C-Aufnahme abhängt. Dies stimmt weitgehend überein mit der von TILLOTSON und O'CONNOR (1981) untersuchten Exkretion von 1- ^{14}C -AA im Urin von Makaken. Der Anteil nicht-verstoffwechselter Ascorbinsäure an der gesamten ^{14}C -Exkretion betrug bei hoher Vitamin C-Versorgung etwa 75%. Diese

Autoren stellten anhand der ^{14}C -Exkretion im Urin fest, daß sich nach raschen initialen Verteilungsvorgängen ca. 24 Stunden nach oraler Gabe eine Gleichverteilung einstellt. Sie schlossen daraus, daß nur die permanente Applikation hoher Dosen die Gewebespiegel von Ascorbinsäure erhöhen können. Die Verabreichung von Vitamin C als Einzeldosis in großer Menge, etwa zu prophylaktischen oder therapeutischen Zwecken, erscheint deswegen wenig sinnvoll.

Bei marginaler Versorgung sank der Anteil der Ausscheidung der Dosis im Urin drastisch ab. Der Urin enthielt nur noch geringe Mengen unverstoffwechselter Ascorbinsäure, in der auch keine spezifische ^{14}C -Aktivitäten nachgewiesen werden konnten. Die unspezifische ^{14}C -Aktivität muß daher nicht identifizierten Metaboliten und Abbauprodukten von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Asorbinsäure zugeordnet werden. Dies zeigt, daß bei diesem Versorgungsgrad bei Krallenaffen nahezu die gesamte resorbierte Ascorbinsäure metabolisiert beziehungsweise im Organismus retiniert wird; dabei ist die respiratorische Exkretion in den ersten 24 Stunden deutlich höher.

Bei allen Versuchen wurde am Ende des Versuchszeitraums, nach 14 beziehungsweise 4 Tagen, im Urin eine deutlich höhere ^{14}C -Aktivität als in der Expirationsluft festgestellt. Dies bedeutet, daß auch nach Gleichverteilung einer Dosis Vitamin C im Organismus die renale Exkretion den Hauptweg der Ausscheidung darstellt und die Oxidation zu CO_2 von minderer Bedeutung ist.

Die ^{14}C -Exkretion im Urin bei beiden Affen war bei marginaler Vitamin C-Versorgung etwa gleich groß. Bei Hochversorgung jedoch schied der *C.jacchus* weitaus höhere Anteile an der verabreichten Dosis im Urin aus. Im selben Zeitraum konnten bei dem *S.fuscicollis* sehr hohe ^{14}C -Aktivitäten im Kot gemessen werden. Dies legt den Schluß nahe, daß bei *S.fuscicollis* die oral zugeführte

Menge zu einem geringeren Prozentsatz resorbiert wird. Streß und Gesundheitszustand der Affen beeinflussten auch die Höhe der ^{14}C -Exkretion im Urin. Der *C.jacchus* schied nach Streßinduktion nur etwa halb so viel ^{14}C -Aktivität im Urin aus wie im vorangegangenen Versuch. Da im gleichen Zeitraum die Exhalation von $^{14}\text{CO}_2$ anstieg, könnte dies bedeuten, daß durch Streß ein höherer Anteil einer oral aufgenommenen Dosis $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ oxidiert wird und dadurch weniger für sonstige Stoffwechselabläufe zur Verfügung steht. Auch die geänderte Stoffwechsellage durch 100 g Gewichtsverlust in Versuch III mit diesem Affen wirkte sich im gleichen Sinn aus.

Der umgekehrte Effekt zeigte sich bei dem *Saguinus fuscicollis* nach Gewöhnung an die Versuchsbedingungen. Er schied im Urin erheblich höhere ^{14}C -Aktivitäten aus als im vorangegangenen Versuch, in dem er durch die ungewohnten Versuchsprozedur einer starken Streßbelastung ausgesetzt war.

4.3. ^{14}C -Exkretion in den Fäzes

Die Hauptmenge der im Kot gemessenen ^{14}C -Aktivität wurde bei allen Versuchen in den ersten 24 Stunden nach Verabreichung von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ gefunden. Ab dem 2.Versuchstag waren in den Fäzes nur noch geringe ^{14}C -Aktivitäten nachweisbar. Der Anteil der Exkretion im Kot an der Ausscheidung von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ betrug bei dem *Saguinus fuscicollis* 7,0% bis 22,3%, bei dem *Callithrix jacchus* 2,5% bis 12,9%. Damit werden weitaus höhere Anteile oral verabreichter $1\text{-}^{14}\text{C-Ascorbinsäure}$ in den Fäzes ausgeschieden als bei Mensch (BAKER et al., 1975), Meerschweinchen (HORNIG et al., 1983) und Makaken (TILLOTSON and O'CONNOR, 1981), bei denen der Anteil im Kot 2,5% der gegebenen Dosis in den ersten 24 Versuchsstunden nur bei sehr hoher Vit-

amin C-Zufuhr überstieg. Die im Kot des *C.jacchus* wieder-gefundenen ^{14}C -Aktivitäten ließen keine eindeutige Proportionalität zur Höhe der Vitamin C-Zufuhr erkennen. Während der ersten 24 Stunden des ersten Versuchs mit marginaler Versorgung (Versuch I) betrug der Anteil 8,1%, im Wiederholungsversuch mit Hochversorgung nur 2,0% (Versuch VII). Eine nahezu gegensätzliche Tendenz zeigte sich in den drei anderen Versuchen mit diesem Affen. In Versuch VI, in dem die Diät 4000 ppm Vitamin C enthielt, schied dieser Affe im selben Zeitraum 7,3% der Dosis aus, dagegen in den Versuchen II und III bei marginaler Vitamin C-Zufuhr nur noch 5,2 beziehungsweise 4,1% der Dosis. Auch beim *S.fuscicollis* wurden am ersten Versuchstag hohe Dosis-anteile im Kot gemessen, nämlich bei Hochversorgung 20,3%, bei Marginalversorgung 10,8% bzw. 6,2%. Hohe Vitamin C-Zufuhr verringert bei dieser Spezies somit die prozentual im Darm resorbierte Menge.

Der Vergleich der beiden Spezies zeigt, daß *C.jacchus* höhere Anteile der oral aufgenommenen Mengen von Vitamin C aus dem Darm resorbiert. Auch dies dürfte zu dem höheren Serum-Vitamin C-Gehalt dieser Art, im Vergleich zu *S.fuscicollis*, beitragen. Während beim *C.jacchus* der größte Anteil der ^{14}C -Ausscheidung im Kot zwischen der 9. und der 24. Stunde nach Versuchsbeginn festzustellen war, kam es beim *S.fuscicollis* bei zwei Versuchen schon in den ersten Stunden nach Applikation des $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ zu einer massiven ^{14}C -Exkretion im Kot. Dies hing sicher mit dem im diesem Zeitraum beobachteten häufigen Absetzen von dünnbreiigem Kot zusammen, was auf eine schnellere Darmpassage schließen läßt.

Auch gegen Ende des Versuchszeitraums konnte in allen Versuchen noch ^{14}C -Aktivität in den Fäzes gemessen werden. Vermutlich ist diese auf sekretorischem Weg in den

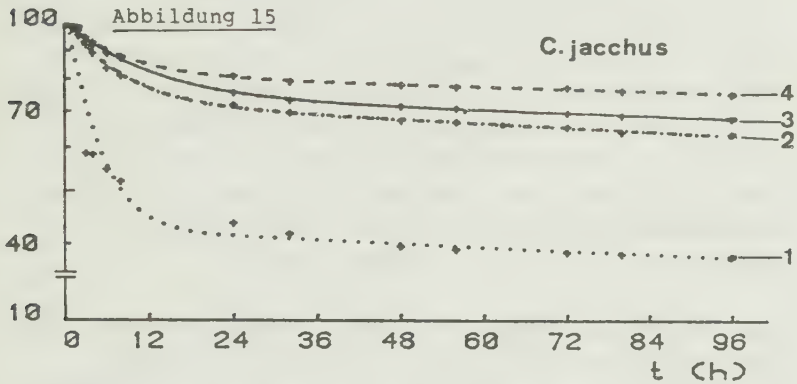
Darm gelangt. Die Tatsache, daß dies lange nach Gleichverteilung der zugeführten Ascorbinsäure im Organismus geschah, legt nahe, daß ein Teil der Ascorbinsäure oder deren Abbauprodukte aus den Geweben im Kot ausgeschieden werden. Natürlich konnte durch unsere Messungen nur ein geringer Teil der fäkalen Exkretion von Ascorbinsäure beziehungsweise deren Metabolite und Abbauprodukte erfaßt werden, da die verabreichte $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ nur einen minimalen Teil der gesamten Ascorbinsäurezufuhr ausmachte. Zudem wurde die in den Geweben aufgenommene $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ -Konzentration ständig durch neu zugeführte, nicht markierte Ascorbinsäure verdünnt.

Die Sammlung der Kotproben, insbesondere, wenn der Kot dünnbreiig war, war nicht immer zu 100% möglich. Auch kann eine gewisse Kontamination des Kotes durch Verunreinigung mit Urin nicht ausgeschlossen werden. Allerdings hielt sich dies in Grenzen, wie allein die Tatsache zeigt, daß die höchsten Werte im Kot erst mehrere Stunden nach der höchsten ^{14}C -Ausscheidung im Urin gefunden wurden.

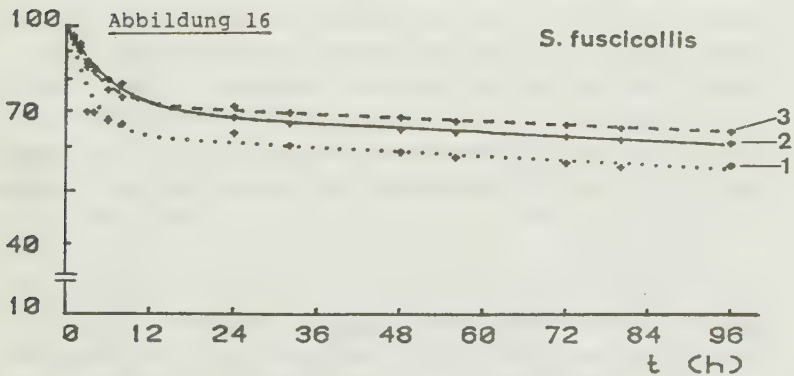
4.4. Bewertung der kinetischen Parameter

Jede der anhand der Ganzkörperretentionswerte errechneten Ausgleichsfunktionen ist die Summe von zwei Exponentialfunktionen. Die semilogarithmisch aufgetragenen Retentionskurven sind in den Abbildungen 15 und 16 wiedergegeben. Der Verlauf mit einem anfänglich steilen und daran sich anschließendem flachen, nahezu geradlinigen Abschnitt, drückt aus, daß der Vitamin C-Stoffwechsel initial von Verteilungsvorgängen überlagert wird. Daraus ergibt sich, daß beim Studium des Stoffwechsels von Ascorbinsäure mit Radioisotopen bei Krallenaffen zwei Kompartimente mit unterschiedlichen Halbwertszeiten zu berücksichtigen sind.

Zeitlicher Verlauf der ^{14}C -Retention nach oraler Gabe von $1\text{-}^{14}\text{C}$ -Ascorbinsäure, semilogarithmisch aufgetragen, bei *C.jacchus* (Abb. 15) und *S.fuscicollis* (Abb. 16)



- | | |
|--|---|
| 1: Versuch VI, 4000 ppm Vit. C | 3: Versuch I, 250 ppm Vit. C
ohne Gewöhnung |
| 2: Versuch III, 250 ppm Vit. C
nach Gewichtsverlust | 4: Versuch II, 250 ppm Vit. C
mit Streßinduktion |



- | | |
|---|---|
| 1: Versuch VIII, 4000 ppm Vit. C | 3: Versuch IV, 250 ppm Vit. C
ohne Gewöhnung |
| 2: Versuch V, 250 ppm Vit. C
mit Gewöhnung | |

In ähnlichen Studien an Makaken erstellten TILLOTSON und O'CONNOR (1981) anhand der Retention von $1\text{-}^{14}\text{C-AA}$ ebenfalls ein 2-Kompartiment-Modell. Ein Kompartiment ist ein Teil des gesamten Verteilungsraums eines Stoffes im Organismus. Es stellt eine biokinetische Einheit dar und kann, muß aber nicht, mit morphologisch definierten Strukturen (z.B. Gewebe) oder einem anatomischen Gebilde (z.B. Organ) identisch sein. Die Verweilzeiten eines Stoffes in einem Kompartiment werden als Halbwertszeit (HWZ) angegeben. Diese ergeben sich aus der Steigung der Retentionskurven einer mit einem Tracer markierten Einzeldosis dieses Stoffes (DOST, 1968).

Das erste Kompartiment in den vorliegenden Untersuchungen, das aus dem steilen Abschnitt der Kurven hervorgeht, repräsentiert den gesamten Verteilungsraum von Ascorbinsäure nach Resorption aus dem Darm. Der zweite, flachere Verlauf nach Abschluß der Verteilungsvorgänge repräsentiert die Verstoffwechselung von Ascorbinsäure. Er zeigt, daß sich nun die Hauptmenge des Tracers in einem Kompartiment mit einer längeren Verweilzeit befindet. Dadurch wird dessen Halbwertszeit bestimmend für die Exkretion des Tracers. Zu dieser Zeit stellt also die Exkretion praktisch den Output dieses "langsamen" Kompartiments dar. Es ist anzunehmen, daß dieses "langsame" Kompartiment den Raum darstellt, der die gesamten "Reserven" enthält. Die Menge eines Stoffes in einem Verteilungsraum wird als der Pool dieses Stoffes bezeichnet. Folglich stellt die langsame Komponente wahrscheinlich die Verweilzeit des Tracers in den Ascorbinsäurereserven dar und somit deren Umsatz.

Die Halbwertszeiten der Kompartimente sind in Tabelle 14 zusammengefaßt. Dabei ist eindeutig erkennbar, daß die Kinetik der Ausscheidung der Ascorbinsäure in Abhängigkeit von ihrer Konzentration im Futter erfolgt. Die kurzen

Tabelle 14

Halbwertszeiten der Kompartimente

Versuch	I	II	III	IV	V	VI	VIII
Spezies	C.j.+	C.j.+	C.j.+	S.f.*	S.f.*	C.j.+	S.f.*
Vitamin C- Gehalt der Diät (ppm)	250	250	250	250	250	4000	4000
Komparti- ment 1 (h)	7,5	5,5	5,1	3,9	2,6	2,6	2,0
Komparti- zeit 2 (h)	681	871	470	463	568	497	447

+ *Callithrix jacchus*

* *Saguinus fuscicollis*

Halbwertszeiten bei Vitamin C-Hochversorgung sprechen dafür, daß auf diesem Versorgungsniveau die Verweildauer von Vitamin C im Organismus durch schnellere Ausscheidung aus dem ersten Kompartiment und durch erhöhten Vitamin C-Abbau aus dem 2. Kompartiment kürzer ist als bei Marginalversorgung. Die kürzeren Halbwertszeiten im ersten Kompartiment dürften dabei vor allem darauf zurückzuführen sein, daß im Plasma der Schwellenwert für die renale Exkretion überschritten wird, so daß sehr schnell große Mengen des resorbierten Vitamin C unverstoffwechselt ausgeschieden werden. Dies wurde durch hohe spezifische Aktivitäten in Ascorbinsäure im Urin bei diesen Versuchen bestätigt. Dagegen wird bei marginaler Vitamin C-Zufuhr der Schwellenwert nicht überschritten, was durch den sehr geringen Vitamin C-Gehalt im Urin belegt wurde.

Die längeren Halbwertszeiten im zweiten Kompartiment bei den Versuchen mit Marginalversorgung legen den Schluß nahe, daß bei niedriger Vitamin C-Zufuhr auch die Vitamin C-Verstoffwechselung reduziert ist.

Unter Einfluß von Streß wurde die zu katabolisierende Ascorbinsäure bevorzugt aus dem 1. Kompartiment genommen. Das zeigt sich daran, daß die Halbwertszeit im 2. Kompartiment unter Streß (Versuch I) kaum verkürzt beziehungsweise (Versuch II) sogar erhöht war. Bei kataboler Stoffwechsellage (Versuch III, in dem der C.jacchus vermutlich krank war) werden allerdings auch die Reserven (Kompartiment II) stärker angegriffen. In Studien an Makaken stellten TILLOTSON und O'CONNOR (1981) verkürzte Halbwertszeiten unter Einwirkung von Streß fest.

Bei dem S.fuscicollis wurden in allen vergleichbaren Versuchen wesentlich kürzere Halbwertszeiten, d.h. Verweildauer in diesem Verteilungsraum, festgestellt, als bei dem C.jacchus. Eine Erklärung dafür stellt möglicherweise der niedrigere Serumascorbatspiegel von S.fuscicollis im

Vergleich zu *C.jacchus* dar (KERN, 1986).

Da für die kinetische Auswertung der vorliegenden Untersuchungen nur die Ergebnisse der jeweils ersten 4 Versuchstage zugrundegelegt wurden, bedarf es längerdauernder Isotopenexkretionsstudien mit größeren Tierzahlen und mit möglichst kontinuierlicher Messung der Exkrete, um allgemeingültigere Aussagen zur Kinetik der Asorbinsäure bei Krallenaffen treffen zu können.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Um bei Krallenaffen die Verstoffwechselung von Vitamin C quantitativ zu beschreiben, wurde an je einem Affen der Spezies *Callithrix jacchus* und *Saguinus fuscicollis* die Exkretion von oral verabreichter $1\text{-}^{14}\text{C}$ markierter Ascorbinsäure bei verschieden hohem Gehalt an Vitamin C in der Diät, unter dem Einfluß von Streß und unter streßbaren Bedingungen untersucht. Dazu wurde eine Stoffwechselkammer neu konstruiert, die den damit verbundenen, versuchstechnischen Anforderungen entsprach.

Durch die Messung von ^{14}C -Aktivität in Atemluft, Urin und Kot konnte gezeigt werden, daß bei Krallenaffen die Ausscheidung von Ascorbinsäure auf diesen drei Wegen erfolgt. Bei marginaler Vitamin C-Versorgung (250 ppm) werden in den ersten 24 Stunden in der Ausatemluft etwa dreimal höhere Anteile der Dosis als im Urin ausgeschieden. Ab 3 Tagen nach Verabreichung überwog die Exkretion im Urin. Bei Hochversorgung mit Vitamin C (4000 ppm) dagegen schied in den ersten 6 Stunden der *C.jacchus* bis zu 60% der Dosis im Urin aus und 11% der *S.fuscicollis*. 70% davon erwies sich als unverstoffwechselte Ascorbinsäure. Die respiratorische Exkretion stieg bei beiden Tieren unter dem Einfluß von Streß beziehungsweise Krankheit auf bis zu 24% der Dosis.

Die kinetische Auswertung der semilogarithmisch transformierten Retentionskurven ergab ein 2-Kompartiment-Modell mit einem initialen, rasch (HWZ 2-7,5 h), und einem zweiten, sehr langsam (HWZ 447-871 h) austauschenden Kompartiment. Die beiden Affen unterschieden sich deutlich hinsichtlich der Verstoffwechselung von Vitamin C. Bei dem Affen der Spezies *Saguinus fuscicollis* wurde eine schlechtere Resorption von Vitamin C und, unter gleichen Bedingungen, ein höherer oxidativer Abbau zu Kohlendioxid festgestellt.

SUMMARY

Studies on ascorbic acid metabolism in Callithricidae

To study the metabolism of vitamin C in Callithricidae, an adult male each of the species *Callithrix jacchus* and *Saguinus fuscicollis* were given orally 1- ^{14}C -labeled ascorbic acid. The vitamin C content of the diet varied as well as the level of stress. A gasproof metabolic cage, which was necessary for the purpose of the trials, was constructed at first.

The Callithricidae excreted ^{14}C in breath, urine and feces. When the dietary vitamin C level was marginal (250 ppm), the exhaled air contained about 3 times as much ^{14}C as was in urine within the first 24 hours, whereas after 3 days the excretion in urine predominated. At high dietary vitamin C supply (4000 ppm) the *C. jacchus* excreted up to 60% and the *S. fuscicollis* 11% of the dose within the first 6 hours after administration in urine. From this, 70% was excreted as unmetabolized ascorbic acid. Under the influence of stress and supposed illness, up to 24% of the dose was excreted as $^{14}\text{CO}_2$.

The kinetic evaluation of the semilogarithmic transformed retention curves followed a 2-compartment model. The first initial compartment has a short half-life (2-7,5 h), and in the second one the exchange occurs very slowly (half-life 447-871 h).

The two animals tested differed from each other in the metabolism of vitamin C. *Saguinus fuscicollis* exhibited a lower absorption rate than *C. jacchus* and, under similar conditions, had a higher rate of degradation of ascorbic acid to CO_2 .

6. LITERATURVERZEICHNIS

BÄSSLER , K.H. und K. LANG (1981):

Ascorbinsäure (Vitamin C).

In: Vitamine, 2. Auflage (Ed: Bässler, K. H.)

Dr. D. Steinkopf-Verlag, Darmstadt

BAGGIOLINI, M. (1965):

Eine einfache Technik für die Absorption von $^{14}\text{CO}_2$
und dessen direkte Messung im Flüssigkeits-
szintillationszähler.

Experientia 21, 731-733

BAKER, E.M., J.E. HALVER, D.O. JOHNSEN, B.E. JOYCE, M.

NIGHT and B.M. TOLBERT (1975):

Metabolism of ascorbic acid and ascorbic-2-sulfate in
man and the subhuman primate.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 258, 72-80

BANAY, M. and E. DIMANT (1962):

On the metabolism of the scorbutic guinea pig.

Biochem. Biophys. Acta 59, 313-319

BARRETT, A.M. and M.A. STOCKHAM (1963):

The effect of housing conditions and simple
experimental procedures upon the corticosteron level
in the plasma of rats.

J. Endocrin. 26, 97-105

BEISEL, W.R. (1982):

Single nutrients and immunity.

Am. J. Clin. Nutr. 35, 423-428

BERG, D. (1987):

Persönliche Mitteilung

CHATTERJE, I.B., N.C. KAR and B.C. GUHA (1961):

Biosynthesis of L-ascorbic acid.

Nature 192, 163-164

CHIEFFI, M. and J.E. KIRK (1956):

The ascorbic acid excretion in the stool of elderly subjects.

J. Nutr. 59, 273-276

CHOJKIER, M., R. SPANHEIMER and B. PETERKOFISKY (1984):

Specified decreased collagen biosynthesis in scurvey dissociated from an effect on proline hydroxylation and correlated with body weight loss.

In: In Vitro Studies in Guinea Pig Calvarial Bones.
J. Clin. Invest. 72, 826-835

COIMBRA-FILHO, A.P. and R.A. MITTERMEIER (1978):

Tree gouging, exudate-eating and the "short tusked" condition in *Callithrix* and *Cebuella*.

In: Biology and Conservation of the Callithricidae.

(Ed: Kleimann, D.G.),

Smithsonian Institute, 1978, 105-115

CURTIN, C.H. and C.G. KING (1955):

The metabolism of ascorbic acid 1-C¹⁴ and oxalic acid-C¹⁴ in the rat.

J. Biol. Chem. 216, 539-548

DE FAZIO, M.S., D.M. FLINT and M.D. WAHLQVIST (1981):

The effects of alcohol on plasma ascorbic acid in healthy subjects.

Am. J. Clin. Nutr. 34, 2394-2396

DEGKWITZ, E. (1985):

Neue Aspekte der Biochemie des Vitamin C

Z. Ernährungswiss. 24, 219-230

DE KLERK, W.A., J.P. DU PLESSIS, J.J. VAN DER WATT, A. DE JAGER and N.F. LAUBSCHER (1973a):

Vitamin C-requirements of the vervet monkey under experimental conditions.

S. Afr. Med. J. 47, 705-713

DE KLERK, W.A., J.P. KOTZE, I.V. MENNE, M.J.A. MATTHEWS and T. McDONALD (1973b):

The influence of various dietary ascorbic acid levels on serum ascorbic acid and serum cholesterol values of the baboon during captivity.

S. Afr. Med. J. 47, 1503-1510

DOST, F. (1968):

Grundlagen der Pharmakokinetik.

(Ed: Dost, F.H.)

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

ELVIDGE, H., J.R.G. CHALLIS, J.S. ROBINSON, C. ROPER and G.D.T. THORBURN (1976):

Influence of handling and sedation on plasma cortisol in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*).

J. Endocrin. 70, 325-326

FLURER, C., R. SCHEID and H. ZUCKER (1983):

Evaluation of a pelleted diet in a colony of marmosets and tamarins.

Lab. Animal. Sci. 33, 264-267

FRIEDMAN, S. and S. KAUFMAN (1965):

3,4,-dihydroxyphenylethylamine β -hydroxylase: a copper protein.

J. Biol. Chem. 240, 552-554

- GINTER, E., O. CERNA, J. BUDLOVSKY, V. BALAZ, F. HRUBA, F. ROCA and E. SASKO (1967):
Effect of ascorbic acid in plasma cholesterol in humans in a longterm experiment.
Int. J. Vit. Nutr. Res. 47, 123-134
- GINTER, E. and P. BOBECK (1981):
The influence of vitamin C on lipid metabolism.
In: Vitamin C / Ascorbic Acid.
(Eds: J.N. Counsell and D. Hornig),
Appl. Sci. Publ. London and New Jersey, 299-347
- GINTER, E. (1979):
Chronic marginal vitamin C deficiency: biochemistry and pathophysiology.
Wld. Rev. Nutr. Diet 33, 104-141
- GREENFIELD, N., L. POINTICORVO, I. CHASALOW and S. LIEBERMANN (1980):
Activation and inhibition of the adrenal 21-hydroxylation system cytosolic constituents: influence of glutathione, glutathione reductase, and ascorbate.
Arch. Biochem. Biophys. 200, 232-244
- HANKES, L.V., C.R. JANSEN and M. SCHMAELER (1974):
Ascorbic acid catabolism in bantu with hemosiderosis (Scurvey).
Biochem. Med., 9, 244-255
- HAWORTH, W.N., HIRST, E.L., AULT, R.G., BAIRD, D.K., CARRINGTON, H.C., HERBERT, R., PERCIVAL, E.G.V., SMITH, F. and M. STACEY (1933):
Synthesis of D- and of L-ascorbic acid and of analogous substances.
J. Chem. Soc., 1419-1426

HELLMANN, L. and J.J. BURNS (1958):

Metabolism of L-ascorbic acid $1-C^{14}$ in man.

J. biol. Chem. 230, 923-930

HEARN, J.P., S.F. LUNN, F.J. BURDEN and M.M. PICHLER (1975):

Management of marmosets for biomedical research.

Lab. Animals 9, 235-240

HODGES, R.E. (1980):

Ascorbic Acid.

In: Modern Nutrition in Health and Disease.

(Eds: Goodhart, R.S. and M.E. Shils),

Lea and Febiger, Philadelphia, 6. Aufl., 259-273

HOFFMANN-LA ROCHE (1985):

Skorbut bei Erwachsenen.

Vitamin Information 10, 1-2

HOLLOWAY, B.F. (1981):

Kinetic analysis of ascorbic acid in guinea pig.

M. N. thesis, Cornell University, Ithaca, N. Y., USA

HORNIG, D. (1975):

Metabolism of ascorbic acid.

World Rev. Nutr. Diet. 23, 254-258

HORNIG, D. and D. HARTMANN (1982):

Kinetic behaviour of ascorbic acid in guinea pigs.

In: Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses,

(Eds: Seib, P.A. and B.M. Tolbert)

American Chemical Society, Washington

Adv. Chem. Ser. 200, 293-316

HORNIG, D., B. GLATTHAAR and U. MOSER (1983):

General aspects of ascorbic acid function and metabolism.

In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings.

Workshop Skjolenaesholm, Sept. 1983.

The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen 1984

KAGAWA, Y. (1962):

Enzymatic studies on ascorbic acid catabolism in animals.

I. Catabolism of 2,3-diketogulonic acid.

J. Biochem. 51, 134-144

KALLNER, A.B., D. HARTMANN and D. HORNIG (1980):

On the absorption of ascorbic acid in man.

Int. J. Vit. Nutr. Res. 47, 383-388

KALLNER, A.B., D. HARTMANN und D. HORNIG (1981):

On the requirements of ascorbic acid in man: Steady state turnover and body pool in smokers.

Am. J. Clin. Nutr. 34, 1347-1355

KALLNER, A., D. HARTMANN and D. HORNIG (1982):

Kinetics of ascorbic acid in humans.

In: Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses

(Eds. P.A. Seib and B.M. Tolbert),

American Chemical Society, Washington

Adv. Chem. Ser. 200, 335-348

KALLNER, A., D. HORNIG and R. PELLIKKA (1985):

Formation of carbon dioxide from ascorbate in man.

Am. J. Clin. Nutr. 41, 609-613

KERN, M. (1986):

Untersuchungen zum Vitamin C-Bedarf bei Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus*.

Vet. med. Diss., München

KING, C.G. and W.A. WAUGH (1932):

Isolation and identification of vitamin C.

J. Biol. Chem. 97, 325-331

KIPP, D.E. and J.M. RIVERS (1984):

Comparison of isotope dilution and excretion methods for determining the half-life of ascorbic acid in the guinea pig.

J. Nutr. 114, 1386-1395

KITABCHI, A.E. and W.H. WEST (1975):

Effect of steroidogenesis on ascorbic acid content and uptake in isolated adrenal cells.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 258, 422-431

KITABCHI, A.E. (1977):

Ascorbic acid in steroidogenesis.

Nature 215, 1385-1386

KLAIN, G.J., J. TURNBULL and S.T. OMAE (1981):

Oxidation of 1-¹⁴C-ascorbic acid in the guinea pig: effect of the route of administration.

Int. J. Vit. Nutr. Res. 51, 39-45

KÜBLER, W. und J. GEHLER (1970):

Zur Kinetik der enteralen Ascorbinsäure-Resorption. Ein Beitrag zur Berechnung nicht dosisproportionaler Resorptionsvorgänge.

Int. Z. Vit. Forschung 40, 442-453

LEVINE, M.D. (1986):

New concepts in the biology and biochemistry of ascorbic acid.

N. Engl. J. Med. 314, 892-902

LIND, J.A. (1753):

A treatise of the scurvey.

Zitiert nach CHICK, H. (1953):

Early investigations of scurvey and the antisorbatic vitamin.

Proc. Nutr. Soc. 12, 210-219

LINNER, E. and K. NORDSTRÖM (1969):

Transfer of D-isoascorbic acid and L-ascorbic acid into guinea pig eyes.

Docum. Ophthalmol. 26, 164-170

MAJOR, R.H. (1954):

A history of medicine.

(Ed: C.C. Thomas)

Springfield, 51-62

McINTOSH, G.H., W. RICHMOND and R.L. HIMSWORTH (1981):

Vitamin C-deficiency and hypercholesterolaemia in marmoset monkeys.

Nutr. Rep. Int. 23, 237-243

MURPHY, B.L., D.H. KRUSHAK, J.E. MAYNARD, and D.W. BRADLEY (1974):

Ascorbic acid (vitamin C) and its effects on parainfluenza type III virus infection in cotton topped marmosets.

Lab. Animal Sci. 24 (1), 229-232

NAKASHIMA, Y., R. SUZUE, R. SANADA and S. KAWADA (1972):

Effect of ascorbic acid on tyrosine hydroxylase activity in vivo.

Arch. Biochem. Biophys. 152, 552-554

NAPIER, J.R. and P.H. NAPIER (1967):

A Handbook of Living Primates.

Academic Press Inc., New York, 1967

ODUMOSU, A. (1981):

Ascorbic acid and cortisol metabolism in hypovitaminosis C guinea pigs.

Int. J. Vit. Nutr. Res. 52, 175-184

OMAYE, S.T., J.A. TILLOTSON and H.E. SAUBERLICH (1982):

Metabolism of L-ascorbic acid in the monkey.

In: Ascorbic Acid: Chemistry, Metabolism, and Uses.

American Chemical Society, Washington

Adv. Chem. Ser. 200, 317-334

REICHSTEIN, T., GRÜSSNER, A. und R. OPPENHAUER (1933):

Synthese der D- und L-ascorbinsäure (C-Vitamin).

Helv. Chim. Acta 16, 1019-1033

SAPPL, A. (1984):

Proteinbedarfsermittlung bei erwachsenen Krallenaffen durch den N-Bilanzversuch.

Vet. med. Diss., München

SCHMIDT, K.H., HAGMAIER, V., D.HORNIG, D. VUILLEUMIER, J.P.

and G. RUTISHAUSER (1981):

Urinary oxalate excretion after large intakes of ascorbic acid in man.

Am. J. Clin. Nutr. 34, 305-311

SCHMIDT, K.H., H. OBERRITTER, G.BRUCHELT, V. HAGMAIER

and D. HORNIG (1983):

Studies on the metabolic conversion of ascorbate.

Int. J. Vit. Nutr. Res. 53, 77-86

SCHÜEPP, W., J.P. D. GYSEL and D. HESS (1983):

Determination of ascorbic acid in body fluids, tissues and feedstuffs.

In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings.

Workshop Skjolenaesholm, Sept. 1983

The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen 1984

SELYE, H. (1973):

The evaluation of the stress concept.

Am. Sci. 61, 692-695

SPENCER, R.P., S. PURDY, R. HOELDTKE, T.M. BOWE

and M.A. MARKULIS (1963):

Studies on intestinal absorption of L-ascorbic acid $1-^{14}\text{C}$.

Gastroenterology 44, 768-773

SPECTOR, R. and A.V. LORENZO (1973):

Ascorbic acid homeostasis in the central nervous system.

Am. J. Physiol. 225, 757-763

STRUSS, F. (1958):

Automatische Messungen des Gaswechsels bei langfristigen Respirationsversuchen.

1. Symposium on Energy Metabolism, Kopenhagen

EAAP, Publ. Nr. 8, 137-157

THAXTON, J.P. and S.L. PARDUE (1983):

Ascorbic acid and physiological stress.

In: Ascorbic Acid in Domestic Animals. Proceedings.

Workshop Skjolenaesholm, Sept. 1983

The Royal Danish Agricultural Society Copenhagen 1984

TILLOTSON, J.A. (1978):

Ascorbate metabolism in the trained monkey.

Int. J. Vit. Nutr. Res. 48, 374-381

TILLOTSON, J.A. and E.L. MCGOWN (1981):

The relationship of the urinary ascorbate supplementation in the monkey.

Am. J. Clin. Nutr. 34, 2405-2411

TILLOTSON, J.A. and R.J. O`CONNOR (1981):

Steady-state ascorbate metabolism in the monkey.

Am. J. Clin. Nutr. 34, 2397-2404

TOLBERT, B.M. (1979):

Ascorbic acid metabolism and physiological function.

Int. J. Vitam. Nutr. Res. Suppl. 19, 127-142

VON SZENT-GYÖRGYI, A. (1933):

(History of the discovery of) ascorbic acid or vitamin C.

Bull. Soc. Chim. Biol. 15, 694-703

WALLACH, J.D. and W.J. BOEVER (1983):

In: Diseases of Exotic Animals - Medical and Surgical
Management.

Saunders Co., Philadelphia-London-Toronto, 1983

WEININGER, J.K. and J.C. KING (1982):

Effect of oral contraceptive agents on ascorbic acid
metabolism in the rhesus monkey.

Am. J. Clin. Nutr. 35, 1408-1416

WEIS, W. (1975):

Ascorbic acid and electron transport.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 258, 190-200

WENDT, H. (1968):

Springtamarins und Krallenäffchen.

In: Grzimeks Tierleben 10, Kindler Verlag,
Zürich, 348-378

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Zucker für die Überlassung des Themas und die jederzeit freundlich gewährte Unterstützung dieser Arbeit.

Bei Frau Dr. C. Flurer möchte ich mich sehr herzlich bedanken für die hervorragende Betreuung und für die zahlreichen wertvollen Anregungen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ebenso bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. rer. nat., Dr. vet med. habil. W. A. Rambeck für seine konstruktive und freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Dr. W.E. Kollmer und Herrn Dr. D. Berg, Abteilung für Nuklearbiologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung (GSF) in München-Neuherberg, möchte ich vor allem für die Möglichkeit, in einem Tierstall dieser Abteilung Tierversuche durchführen zu können, danken, darüber hinaus aber auch für ihr großes Interesse an der Arbeit und ihre vielen hilfreichen Ratschläge.

Bei Herrn Prof. Dr. F. Deinhardt möchte ich mich bedanken für die Möglichkeit, mit Tieren des Max von Pettenkofer-Institutes für Hygiene und medizinische Mikrobiologie der Universität München Versuche durchführen zu können.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Dr. M. Stangassinger, Herrn Dr. H. Petry und Herrn Dr. H. Glässner für ihre stets hilfsbereite Unterstützung und zahlreichen wertvollen Hinweise.

Frau A. Wetzel und Frau B. Amann danke ich sehr für ihr Interesse und ihre Hilfe bei technischen Problemen.

Außerdem möchte ich mich ganz besonders bedanken bei dem Werkstattteam am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München sowie beim Tierpflegepersonal am selben Institut und in der Abteilung für Nuklearbiologie in der GSF, München-Neuherberg für ihre sehr freundliche Hilfe.

LEBENS LAUF

Gunther Anton Geyer

14.06.1958	geboren in Passau Vater: Josef Geyer, Landwirt gestorben 1981 Mutter: Maria Geyer, geb. Veit
1964 -1968	Besuch der Volksschule in Dietzing
1968 -1977	Besuch des humanistischen Gymnasiums Leopoldinum in Passau
24.06.1977	Abitur
1977 - 1979	Zivildienst im Bischöflichen Jugendamt in Passau
1979 -1985	Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität-München
05.08.1985	Staatsexamen
20.01.1986	Approbation als Tierarzt
seit 07.09.1985	Anfertigung der Dissertation am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
01.01.1986-30.06.1986 und 01.09.1986- 31.12.1986	Tätigkeit als wissenschaftliche Hilfskraft am gleichen Institut

